

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский университет дружбы народов имени
Патриса Лумумбы»

На правах рукописи

Ореиф Эслам Шаабан Мохамед Гхази

**ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ТОКСИЧНОСТИ И КЛЕТОЧНОЙ
ГИБЕЛИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ВЫЗВАННЫХ
НОВЫМИ И КЛАССИЧЕСКИМИ ПРОТИВОГРИБКОВЫМИ
ПРЕПАРАТАМИ**

1.5.11. Микробиология

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор
Института биохимической технологии
и нанотехнологии РУДН (ИБХТН)
Станишевский Ярослав Михайлович

МОСКВА – 2024 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
2.1 Грибы - возбудители болезней.....	16
2.2 Микозы человека	17
2.2.1 Поверхностные и кожные микозы	17
2.2.2 Подкожные микозы	17
2.2.3 Системные микозы	17
2.3 Современные антифунгальные средства и механизмы их действия 18	
2.3.1 Полиены.....	19
2.3.2 Азолы	20
2.3.3 Эхинокандины	21
2.3.4 5-фторцитозин.....	22
2.3.5 Новый класс антифунгальных препаратов	23
2.4 Устойчивость к современным антифунгальным препаратам.....	23
2.4.1 Снижение эффективной концентрации препарата.....	23
2.4.2 Изменение мишени антифунгального препарата	25
2.4.3 Шунтирование метаболических путей	26
2.5 Антифунгальные препараты, применяемые в клинической практике	26
2.6 Использование <i>S. cerevisiae</i> в качестве модельного организма для исследования механизмов действия перспективных антимикотиков	27
2.6.1 Преимущества использования дрожжей <i>S. cerevisiae</i> в качестве модельного организма и системы для разработки антифунгальных препаратов	28
2.6.2 <i>S. cerevisiae</i> как скрининговая платформа в хеномике	30
2.7 Протеомика на основе масс-спектрометрии для разработки новых антифунгальных препаратов	31
2.8 Флуоресцентная проточная цитометрия для анализа белков в отдельных клетках	33
2.8.1 Проточная цитометрия в разработке антифунгальных препаратов	35
2.8.2 Проточная цитометрия флуоресцентно-меченых белков.....	38
2.9 Гетерогенность клеточного ответа на антифунгальные препараты 40	
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
3.1 Материалы исследования	43
3.1.1 Антифунгальные препараты и химические вещества.....	43
3.1.2 Питательные среды и штаммы	45
3.2 Методы исследования	51
3.2.1 Приготовление питательных сред для культивации дрожжей	51
3.2.2 Анализ утойчивости/чувствительности к исследуемым веществам	52

3.2.3	Проточно-цитометрический анализ изменений уровня GFP-меченых белков (метод SCRAPPY).....	54
3.2.4	Создание репортера на основе промотора Kar2	56
3.2.5	Детекция локализации GFP-меченых митохондриальных белков с помощью флуоресцентной микроскопии.....	56
3.2.6	Определение растворимости с помощью УФ-спектрометрии.....	57
3.2.7	Остановка клеточного цикла с помощью гидроксимочевина для оценки их влияния на индуцированную натамицином гибель клеток.....	57
3.2.8	Статистические методы исследования	58

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ГЛАВА III. РАЗРАБОТКА МЕТОДА SCRAPPY (ОДНОКЛЕТОЧНЫЙ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕОМА У ДРОЖЖЕЙ) ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕАКЦИИ ОТДЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ГРИБОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЕЩЕСТВ С АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ	64
---	-----------

3.3	Оптимизация условий инкубации лекарств с дрожжевыми штаммами в подходе SCRAPPY	65
3.4	Общие реакции на изучаемые соединения	69
3.5	Специфический протеомный ответ на действие исследуемых препаратов.....	72
3.5.1	Химические вещества с известным механизмом действия	72
3.5.2	Исследование профилей ответа на вещества с неизвестным механизмом действия.....	84
3.6	Неоднородные изменения уровней митохондриальных белков в клеточной популяции	95
3.7	Обсуждение по главе III.....	97

ГЛАВА IV. МОНИТОРИНГ КОЛИЧЕСТВА GFP-МЕЧЕНОГО ГИСТОНА НТВ2 ДЛЯ БЫСТРОЙ ДЕТЕКЦИИ ВЛИЯНИЯ АНТИМИКОТИКОВ НА КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ ДРОЖЖЕЙ.....	104
--	------------

4.1	Обсуждение по главе IV	109
-----	------------------------------	-----

ГЛАВА V. ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ И ТРАДИЦИОННЫХ ПОЛИЕНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ.....	111
--	------------

5.1	Улучшенная растворимость новых производных полиеновых антифунгальных препаратов.....	112
5.2	Определение чувствительность штаммов дрожжей с нелетальными нарушениями биосинтеза эргостерола к модифицированным полиенам.....	114
5.3	Изучение влияния натамицина и его новых полусинтетических производных амидов на клеточное деление различных штаммов <i>S. cerevisiae</i>	116
5.3.1	Выживаемость/ингибирование роста	116
5.3.2	Исследование индуцированной натамицином гибели клеток и ее связи с ингибированием клеточного деления	119

5.4	Обсуждение по главе V.....	121
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	124
	ВЫВОДЫ	127
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ	129
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	130
	ПРИЛОЖЕНИЯ.....	141

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Существует большое количество патогенных грибов, вызывающих болезни растений, животных и человека. Среди возбудителей болезней растений фитопатогенные грибы являются основной причиной чрезвычайно разрушительных эпидемий сельскохозяйственных культур. Такие эпидемии и менее масштабные вспышки ежегодно приводят к значительным потерям урожая во всем мире [1]. На данный момент описано более 8000 видов фитопатогенных грибов [2]. Кроме того, известно около 625 различных видов грибов, инфицирующих позвоночных, около 200 из которых могут вызывать инфекционные заболевания человека [3]. Ежегодно от болезней, вызванных инфекциями патогенных грибов умирает более 1,5 миллионов человек [4, 5].

Растущая заболеваемость микозами во всем мире и одновременная эволюция самих патогенных грибов, устойчивых к некоторым или всем современным пантифунгальным препаратам, делают эти организмы большой угрозой для здоровья и жизни человека [3]. Для борьбы с патогенами грибов требуется наличие эффективных антимикотиков препаратов. В настоящее время существует только четыре класса антифунгальных препаратов, одобренных для лечения системных микозов – это азолы, полиены, эхинокандины и флуцитозин, что сильно ограничивает возможности лечения пациентов [6].

Ограниченная эффективность антифунгальных препаратов в результате возникновения устойчивых патогенов приводит к затяжным заболеваниям, неудачам в лечении и более высоким показателям смертности. Все вышесказанное отражает актуальность и важность задачи поиска новых антимикотиков и выяснения механизмов их действия.

В данной работе разработан новый подход к анализу ответа клеток грибов на воздействие веществ с антимикотической активностью. Это

облегчает решение практических задач, связанных с созданием новых антимикотиков и с устойчивостью микроорганизмов к антифунгальным препаратам. В частности, это позволяет быстро проводить сравнение основных аспектов механизма действия известных веществ с неизвестными, позволяет сравнивать основные аспекты механизма действия между различными модификациями веществ, отличающихся по клинически-значимым параметрам, а также идентифицировать важные особенности механизма действия, которые могут способствовать более полному изучению этого механизма с помощью других методов.

Кроме того, данный метод позволил разработать новый подход к исследованию влияния различных веществ на клеточный цикл, а также идентифицировать два различных ответа на воздействие тиазолидиновых антимикотиков в гомогенной популяции дрожжей. Эти результаты стали возможны благодаря тому, что данные, полученные методом SCRAPPY предоставляют информацию об изменениях уровня белков в индивидуальных клетках.

Степень разработанности темы

Поскольку проблема бактериальных, грибов и других видов патогенов человека, животных и сельскохозяйственных растений и продукции является крайне актуальной, множество научных лабораторий и компаний синтезируют новые химические вещества, воздействующие на различные микроорганизмы. Независимо от того, были ли эти вещества целенаправленно синтезированы, отобраны рационально или обнаружены в ходе неспецифического скрининга, их эффективное применение и дальнейшая модификация для повышения эффективности, требуют детального понимания механизмов их действия. Обычные подходы для получения таких данных включают идентификацию мутантов с устойчивостью или чувствительностью к изучаемому веществу (наиболее подходящий метод для токсичных веществ) [7] или анализ клеточного ответа на химические вещества, чаще всего с использованием

транскриптомных и (или) протеомных данных на основе масс-спектрометрии (МС), что применимо как для токсичных, так и для нетоксичных веществ.

В настоящее время для анализа механизмов действия антифунгальных препаратов в основном используют транскриптомные и, основанные на МС, протеомные методы, которые обеспечивают получение большого количества данных о клеточном ответе на химическое или иное воздействие, включая информацию о тысячах транскриптов или белков, а также о сплайсинге и посттрансляционных модификациях. Однако получение и анализ этих данных часто требуют значительных материальных и временных затрат, что ограничивает число тестируемых веществ.

Эти методы не позволяют определять реакцию на изучаемые вещества отдельных клеток и процессов, происходящих в них или в ограниченных подгруппах клеток в популяции, что может привести к потере важной информации, необходимой для понимания механизма действия того или иного вещества. Например, небольшая подгруппа клеток может быть представлена персисторами [8] — клетками с повышенной устойчивостью к препарату, которые могут демонстрировать уникальный ответ. Кроме того, грибы способны образовывать биопленки [9], в которых клетки часто имеют разную морфологию, что также может влиять на устойчивость к антифунгальным препаратам [10]. Таким образом, наблюдение ответов на уровне отдельных клеток важно для изучения резистентности микроорганизмов к изучаемым веществам.

S. cerevisiae является одним из наиболее охарактеризованных эукариотических организмов. Благодаря развитым и доступным инструментам генной инженерии, дрожжи *S. cerevisiae* удобно использовать для определения механизмов действия различных антифунгальных соединений с использованием скрининга мутантов в сочетании с транскриптомным и протеомным анализами, и последующей проверкой гипотез с применением обширных библиотек мутантов [11]. Многочисленные исследования успешно

применяли этот подход для выяснения механизмов действия различных антифунгальных агентов [12] [13].

Для высокопроизводительных и высокоинформативных исследований различных явлений, таких как шум на уровне белков [14], репликативное старение [15], а также более узконаправленных исследований, например, эффекта соседнего гена [16] используются систематические коллекции дрожжей, экспрессирующие GFP-меченые белки [17] и проточную цитометрию. Такой инструмент идеально подходит для получения протеомных данных для одной клетки. В частности, в недавнем исследовании сообщалось о полезности использования ограниченного набора белков-репортеров для изучения клеточного ответа на стресс с помощью направленной протеомики на основе масс-спектрометрии [18].

Цель работы

Целью настоящего исследования является разработка высокоэффективного метода получения характеристик ответа клеток грибов на воздействие веществ с антифунгальной активностью и применение этого метода для характеристики и сравнения механизмов действия известных и новых видов антимикотиков на клетки дрожжей. Помимо основной цели, в рамках работы также было запланировано охарактеризовать ряд новых полиеновых антимикотиков с точки зрения их эффективности против дрожжей с нарушениями пути биосинтеза эргостерола и клеточной гибели.

Задачи исследования

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Сформировать панель штаммов *S. cerevisiae*, продуцирующих белки, меченные GFP, которая позволит изучить реакции различных

внутриклеточных систем, включая изменения в клеточном цикле на воздействие антимикотиков.

2. Применить с использованием проточной цитометрии созданную панель для анализа и сравнения клеточных ответов на вещества с антимикотической активностью, для которых известен механизм действия, и для которых механизм действия еще не описан. К последним относятся производные тиазолидина, новое гибридное соединение тиазолидина и азола L173 и алкилированные нуклеозиды.
3. Сравнить чувствительность штаммов дрожжей с нелетальными нарушениями биосинтеза эргостерола к модифицированным полиенам с повышенной растворимостью в воде.
4. Исследовать фунгицидное и фунгистатическое действие натамицина и его новых производных на дрожжевые клетки.

Научная новизна и практическая ценность работы

Предложенный и протестированный в данной работе подход, основан на использовании метода проточной цитометрии для анализа изменений уровня экспрессии большого набора белков, меченных GFP. При этом один штамм дрожжей используется для анализа изменений уровня экспрессии одного белка. Полученные результаты исследования 12 веществ с антимикотической активностью с известными и неизвестными механизмами действия показывают, что метод, названный **SCRAPPY (Single Cell Rapid Assay of Proteome Perturbation in Yeast; одноклеточный экспресс-анализ изменения протеома дрожжей)**, может быть использован для быстрого и простого получения протеомного профиля клеточного ответа на широкий спектр химических веществ.

Основная новизна выполненной работы заключается в быстроте проведения и экономичности разработанного теста: Метод позволяет в течение короткого времени получить протеомный профиль клеточного ответа на широкий спектр химических веществ, что делает его удобным для

масштабного тестирования различных условий применения антифунгальных препаратов. Количественные и воспроизводимые результаты для изменения уровня белка в ответ на действие одного вещества (или ряда веществ) могут быть получены за 5-6 часов и требуют работы одного человека.

Метод SCRAPPY также позволяет проводить анализ на уровне одной клетки, что позволяет получить данные, которые недоступны или сложно выполнимы с помощью других методов, таких как: методы, основанные на анализе роста клеток на твердых питательных средах на чашках Петри и масс-спектропии. Уникальная возможность измерять уровни белков на уровне одной клетки способствует выявлению клеточной гетерогенности биологических реакций, которые могут остаться незамеченными при массовом анализе. Это предоставляет важные сведения об адаптации клеток к исследуемым веществам. В частности, в нашей работе была продемонстрирована возможность наблюдения за влиянием различных веществ на прохождение клеточного цикла, а также описано ранее неизвестное явление гетерогенного ответа клеток на воздействие тиазолидиновых антимикотиков, которое заключалось в изменении уровня ряда митохондриальных белков только в части клеточной популяции.

Такой анализ также позволяет оценивать клеточный ответ только в живых клетках, при одновременном применении красителей, которые оценивают проницаемость клеточной мембраны. Соответственно, метод может быть применен при концентрациях, близких к терапевтически-значимым. Поскольку другие методы оценивают популяцию клеток, а не индивидуальные клетки, значительное число мертвых клеток, белки которых могут вытекать из клетки, может искажать результаты таких исследований.

В результате работы впервые были получены сведения о механизмах действия ряда антимикотиков, в частности, впервые получены данные о реакции клеток грибов на тиазолидиновый антимикотик микозидин, который одобрен Минздравом РФ для наружного применения. Микозидин приводит к

индукции переносчика глюкозы Hxt3, и отсутствие этого белка вызывало чувствительность к этому веществу.

Также впервые охарактеризован механизм действия алкилированных аналогов цитидина. Показано, что вещества SOV4 и SOV8 вызывают увеличение количества белков Hom2 и Aro3, участвующих в синтезе ароматических аминокислот, и белка окислительного стресса Trx2.

Наконец, было исследовано новое гибридное соединение L173, состоящее из азольной и тиазолидиновой части. Было продемонстрировано сходство с ответом на азольные, но не тиазолидиновые антимикотики (микозидин), что указывает на то, что активной является только его азольная часть.

Помимо метода SCRAPPY, в работе было впервые показано, что широко используемый в медицине и пищевой промышленности натамицин, обладает необычным фунгицидным действием, так как приводит к наиболее эффективной гибели клеток при концентрации близкой к МИК, но при концентрации выше МИК его фунгицидное действия становится значительно менее эффективным.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные предоставили новую информацию о механизме действия некоторых из проанализированных веществ с неизвестным механизмом и продемонстрировали специфическое увеличение уровня белков, отвечающих за работу тех систем клетки, на которые нацелены вещества с известным механизмом действия. Таким образом созданный метод представляет большой интерес для быстрой характеристики механизма действия различных биологически активных соединений и в особенности антимикотиков.

Включение дрожжевого гистонового белка Htb2-GFP позволило легко отслеживать влияние соединений на клеточный цикл. Был разработан новый

практичный метод выявления изменений клеточного цикла. Таким образом подходы, разработанные в ходе данного исследования, могут найти широкое применение в различных областях, таких как микробиология, биотехнология и разработка лекарственных препаратов. Например, разъяснение молекулярного механизма действия антимикотиков позволяет исследователям и врачам более точно настраивать стратегии лечения, предвидеть механизмы резистентности и оптимизировать терапевтические результаты.

Методология и методы исследований

В работе использовали современные микробиологические, молекулярно-генетические методы, а также методы биоинформатического анализа. Применялись следующие методы исследования: фенотипические методы определения устойчивости к антифунгальным препаратам согласно M27M44S, Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антифунгальным препаратам» (2022). Проточно-цитометрический анализ изменений уровня GFP-меченых белков и эксперименты на основе флуоресцентной микроскопии. Кроме того, были применены различные статистические методы анализа, что позволило эффективно интерпретировать данные и сделать обоснованные выводы на основе экспериментальных результатов. Подробное описание методов представлено в главе «Материалы и методы».

Положения, выносимые на защиту

С использованием систематической коллекции GFP-меченых штаммов *S. cerevisiae* был создан эффективный метод (получивший название SCRAPPY - Single Cell Rapid Assay of Proteome Perturbation in Yeast) для изучения реакции отдельных дрожжевых клеток на действие различных биологически активных веществ, в том числе антимикотиков. Например, микозидин и его производное (3В-Мус) показали индукцию транспортера глюкозы Hxt3. Алкилированные нуклеозиды SOV4 и SOV8 повышают уровень белков,

участвующих в биосинтезе ароматических аминокислот, а также в окислительном стрессе. 2-Мэркаптопиридин-N-оксид (MP) и новое соединение 11326083 вызывали индукцию Cup1-1-GFP и Cup1-2-GFP, которые являются металлотионеинами, участвующими в детоксикации меди. Более того, SCRAPPY метод позволяет легко определить роль каждой части гибридной молекулы L-173, состоящей из азольной и тиазольной частей.

Изучено влияние ряда антимикотиков на клеточный цикл дрожжей с использованием количественного определения белка количества гистона Htb2-GFP в отдельных клетках дрожжей.

Показано, что микозидин - производное тиазолидина, обладающее фунгицидным действием на клетки *S. cerevisiae*, повышает уровень белка-переносчика глюкозы Hxt3. Кроме того, воздействие на клетки микозидином приводит к повышению уровней митохондриальных белков (Ald4 и Idp1) в части популяции клеток, и вызывает изменения в морфологии митохондрий.

Показано, что различные модификации полиенов в разной степени изменяют свою минимальную ингибирующую концентрации (МИК) в зависимости от наличия мутаций в пути биосинтеза эргостерола.

Впервые показано, что натамицин обладает необычным фунгицидным действием, так как приводит к наиболее эффективной гибели клеток при концентрации близкой к МИК, но при концентрации выше МИК его фунгицидное действия становится значительно менее эффективным.

Апробация результатов

Основные материалы диссертационной работы были представлены и обсуждены на российских и международных научных конференциях: на Юбилейной V научно практической конференции «Международная интеграция в сфере химической и фармацевтической промышленности» (18 декабря 2020, РУДН, Москва, Россия), 3-м Российском Микробиологическом Конгрессе (26 сентября – 1 октября 2021, Псков, Россия), симпозиуме

института Вестердаик по грибковой эволюция в Академии искусств и наук Королевства Нидерланды (17-18 апреля 2023, Амстердам, Нидерланды), Международном форуме природоподобных технологий (КурчатовГенТех-2023) (17–20 октября 2023, Москва, Россия), XI Международной научно-практической конференции молодых ученых современных тенденции развития технологий здоровьесбережения (30 ноября - 1 декабря 2023, Москва) и Всероссийской VIII научно-практической конференции «Международная интеграция в сфере химической и фармацевтической промышленности» на базе Института биохимической технологии и нанотехнологии РУДН (13 — 14 декабря 2023, Москва, Россия).

Внедрение результатов исследования в практику

Работа предоставляет быстрый и экономически эффективный инструмент для хемо-протеомного профилирования на уровне отдельных клеток и имеет потенциал для понимания клеточных ответов на биологически активные вещества, включая антифунгальные препараты. Это облегчает исследование механизмов действия новых антимикотиков. В свою очередь, это может помочь бороться с проблемой микозов и антифунгальной резистентностьюрезистентности. Данные, полученные методом SCRAPPY, были использованы командой в Институте ФИЦ биотехнологии РАН для исследования нового профиля соединения с неизвестным механизмом действия алкилированных цитидинов и продемонстрировали участие биосинтеза ароматических аминокислот и окислительного стресса.

Степень достоверности полученных результатов

Результаты, полученные в ходе данной работы, являются статистически достоверными и были получены в необходимом количестве повторов. Использованные методы, включают проточную цитометрию, флуоресцентную микроскопию, тестирование чувствительности к биологически-активным веществам, спектрофотометрию и анализ гибели

клеток. Первичный анализ исходных данных проводился с помощью программного обеспечения CytExpert (Beckman Coulter). Впоследствии для дальнейшего анализа были использованы пользовательские скрипты Python. Сравнение белка между обработанными и контрольными клетками проводили с использованием двух метрик: кратного изменения флуоресценции и вычисления z-критерия. Статистический анализ был проведён с использованием различных методов для оценки влияния обработок на измеряемые переменные и проверки надежности полученных результатов. В частности, для сравнения значений внутри зависимых выборок применялся парный t-тест, а для анализа данных, не соответствующих требованиям нормальности, использовался тест Фридмана, дополненный пост-хок тестом Данна-Бонферрони. Для изучения взаимосвязей между переменными и оценки силы этих связей были использованы коэффициенты корреляции Спирмена и Пирсона. Применение таких разнообразных методов обеспечило высокую степень надёжности и достоверности полученных данных.

Личный вклад автора

Диссертационная работа представляет собой законченный, самостоятельно выполненный труд автора. Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в проведение всех экспериментальных работ, включая проверку противогрибковой активности новых препаратов, отбор и выделение штаммов *S. cerevisiae*, проведение фенотипических и протеомных тестов, анализ результатов и их подготовка для публикации статей, проведении анализа отечественных и зарубежных источников литературы, подготовки докладов, оформлении диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование, включающее вопросы изучения механизмов токсичности и клеточной гибели пекарских дрожжей *S. cerevisiae*, вызванных новыми и классическими антифунгальными препаратами, соответствует паспорту специальности 1.5.11 микробиология (биологические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 5 и 12 паспорта специальности.

Публикации

По теме диссертации опубликованы 12 научных работ, из них 6 в журналах, индексируемых в международных базах цитирования Scopus и WOS, 6 – в иных изданиях, в сборниках научно-практических конференций и материалах форума.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы «материалы и методы», главы «результаты и их обсуждение», заключения, выводов, списка литературы и приложений. материалы диссертации изложены на 178 страницах машинописного текста, включая 17 таблиц и 31 рисунков. Список литературы содержит 212 работ.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1 Грибы - возбудители болезней

Большинство грибов являются гетеротрофными сапрофитами, и являются свободноживущими. Они играют важную роль в поддержании здоровой экосистемы и участвуют в геохимических циклах. Хотя подавляющее большинство грибов не являются патогенными, некоторые из них могут наносить серьезный вред людям, животным и растениям, что приводит к катастрофическим последствиям для биоразнообразия, сельского хозяйства и здоровья населения [19]. Заболевания, вызванные патогенными видами грибов, являются самой распространенной инфекцией у растений. Например, массовое поражение картофеля грибом *Phytophthora infestans* в Ирландии (1845–1852) привело к голоду по всей Европе [20]. Кроме того, текущая эпидемия, поражающая бананы, известная как фузариозное увядание или панамская болезнь, вызвана в основном почвенным грибом *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). Этот штамм существенно повлиял на мировое производство бананов, угрожая продовольственной безопасности и экономикам, зависящим от выращивания бананов [21]. Грибы также вызывают порчу продуктов питания, выделяя токсичные химические вещества, делающие их непригодными для употребления в пищу [22].

Помимо влияния на жизнедеятельность человека, грибы способны сильно влиять на видовое разнообразие, что иногда приводит даже к исчезновению отдельных видов. Например, причиной резкого сокращения численности видов земноводных считают активность патогенных для них грибов *Batrachochytrium dendrobatidis* и *B. salamandrivorans* [23].

Как было упомянуто ранее, грибки также могут быть патогенными для человека, вызывая различные заболевания, так называемые микозы. По сравнению с бактериальными и вирусными инфекциями, инфекции, вызванные грибами, сравнительно редко поражают у здоровых людей, и чаще всего наблюдаются у людей с ослабленным иммунитетом, таких как больные

СПИД, муковисцидозом, проходящие химиотерапию при лечении рака, принимающие иммунодепрессанты после трансплантации органов и т. д [24]. Заболевания, вызванные грибами, приводят к более 1,5 миллиона смертей каждый год [4, 5]. Микозы характеризуются широким спектром тяжести - от легкой формы (например, поражение кожных покровов) до тяжелых системных состояний, угрожающих жизни человека.[25].

2.2 Микозы человека

Инфекции человека, вызванные грибами, можно классифицировать по степени тяжести на три основные категории: поверхностные, подкожные и системные.

2.2.1 Поверхностные и кожные микозы

Эти инфекции поражают внешние слои кожи, волос и ногтей, такие как *tinea pedis* (стопа атлета), *tinea corporis* (стригущий лишай), *tinea cruris* (паховый деоматомикоз), инфекции ногтей (онихомикоз), вызванные грибами. Поверхностные микозы обычно протекают в легкой форме и часто поддаются лечению местными антифунгальными препаратами [26].

2.2.2 Подкожные микозы

Эти инфекции поражают более глубокие слои кожи, подкожные ткани, а иногда мышцы и кости. Обычно они возникают после травматической инокуляции грибов в кожу. Споротрихоз, хромобластомикоз и мицетома являются наиболее распространенными подкожными микозами. Подкожные инфекции, вызванные грибами, могут быть хроническими и могут потребовать длительного лечения системными антимикотиками [27].

2.2.3 Системные микозы

Это самые тяжелые виды микозов, поражающие внутренние органы и ткани. Они могут возникать у людей с ослабленной иммунной системой или у людей с сопутствующими заболеваниями. Эти инфекции делятся на:

А) Системные первичные микозы — это инфекции, вызванные грибами, которые по своей природе являются патогенами человека. Эти инфекции часто начинаются в легких после вдыхания спор грибов и потенциально могут распространяться на другие органы, приводя к системному заболеванию (часто бессимптомному или клинически легкому в большинстве случаев). Примерами системных первичных микозов являются гистоплазмозы, кокцидиоидомикозы, бластомикозы и пара-кокцидиоидомикозы [28].

В) Системные оппортунистические микозы – это микозы, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, в частности *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus neoformans* и *Mucor* spp. К факторам, предрасполагающим развитию таких инфекций, относят нейтропению, трансплантацию органов, применение стероидов, антибиотиков широкого спектра действия, противоопухолевой химиотерапии, парентеральное питание, длительные внутривенные инфузии и обширные хирургические вмешательства [29]. К наиболее распространенным системным оппортунистическим глубоким микозам относятся кандидоз, аспергиллез, криптококкоз, зигомикоз (мукормикоз) и феогифомикоз. Кандидоз составляет 70 % всех системных микозов в мире, за ним следуют криптококкоз (20 %) и аспергиллез (10 %) [4].

2.3 Современные антифунгальные средства и механизмы их действия

В настоящее время существует четыре основных класса одобренных FDA антимикотических (антифунгальных) средств, используемых для лечения системных микозов, а именно: полиены, флуцитозин, азолы и эхинокандины [30].

2.3.1 Полиены

Полиеновые антифунгальные препараты являются амфипатическими соединениями, состоящими из гидрофобной полиеновой углеводородной цепи и гидрофильной полигидроксильной цепи [31]. Они продуцируются различными видами бактерий-стрептомицетов и связываются непосредственно со стеролами в клеточной мембране гриба, а именно с эргостеролом. Амфотерицин и нистатин нарушают целостность мембран, в то время как считается, что натамицин не имеет такой активности [32, 33]. Клетки человека также содержат стеролы, однако у них они представлены холестерином, сродство связывания полиенов с которым ниже, что делает их более селективными к мембранам грибов. Наиболее часто используемыми полиеновыми антифунгальными препаратами являются амфотерицин Б (используется для лечения системных микозов), нистатин А1 (лечение инфекций слизистой оболочки) и натамицин для лечения офтальмологических инфекций или используемый в качестве консерванта в пищевой промышленности [34-36]. В отличие от других полиеновых антибиотиков, которые увеличивают проницаемость мембраны, натамицин действует через новый механизм, специфически связываясь с эргостеролом, не изменяя проницаемость мембраны, тем самым блокируя рост грибов.[33].

Помимо этого, считается, что полиены вызывают окислительное повреждение, стимулируя производство и накопление активных форм кислорода (АФК) в грибах, повреждающих митохондрии, клеточную мембрану, белки и ДНК [37]. Полиены также дестабилизируют плазматическую мембрану клетки грибов путем адсорбции эргостерола [38].

Полиены являются очень важными препаратами для лечения микоза из-за их широкого спектра активности против патогенных дрожжей и плесени, включая *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp., *Fusarium* spp., *Mucorales* (например, *Rhizopus* spp.) и эндемичные микозы (например, *Histoplasma* spp.). Кроме того, резистентность к полиенам встречается редко,

а относительное снижение восприимчивости к ним меньше по сравнению с резистентностью к другим классам антифунгальных препаратов, таким как азолы или эхинокандины [39]. Амфотерицин Б, нистатин и натамицин — полиеновые антимикотические препараты, которые были включены в 22-й список основных лекарственных средств Всемирной организации здравоохранения на 2021 год [40].

Натамицин и нистатин не используются в лечении системных микозов из-за их низкой биодоступности и ограниченной растворимости в водных растворах. Нистатин используется при инфекциях слизистых оболочек, таких как кандидоз полости рта или вульвовагинальный кандидоз, в то время как натамицин специально показан при офтальмологических инфекциях, а также широко используется в пищевой промышленности для продления срока годности продуктов и предотвращения их порчи без ущерба для питательной ценности или вкуса, таких как йогурт и сметана, сыр, соки и вина [41] [42].

2.3.2 Азолы

Азольные антифунгальные препараты широко используются в клинической практике благодаря их безопасности, высокой селективности в отношении грибов, а также доступности различных форм препаратов, включая пероральные, местные и внутривенные [43]. Механизм действия азольных антифунгальных препаратов заключается, прежде всего, в ингибировании активности ланостерол 14 α -деметилазы (CYP51 или Erg1p в дрожжах и некоторых патогенных грибов), которая отвечает за превращение ланостерола в эргостерол и является ключевым ферментом в биосинтезе эргостерола. Ингибируя CYP51, азолы нарушают синтез эргостерола, что приводит к накоплению токсичных стерinov и нарушает целостность клеточной мембраны гриба [44, 45].

Азолы классифицируются на две подгруппы в зависимости от количества атомов азота в их ароматическом кольце:

Имидазолы (с двумя атомами азота): клотримазол, эконазол, кетоконазол, миконазол и тиоконазол. Они в основном используются в виде местных форм из-за их ограниченной биодоступности при системном использовании [46].

Триазолы (с тремя атомами азота): флуконазол, итраконазол, посаконазол, вориконазол и изавуконазол. Они широко используются как для профилактики, так и для лечения инвазивных микозов. Вориконазол, в частности, стал стандартом лечения инвазивного аспергиллеза [46-48].

Тетразолы (пятичленное гетероциклическое кольцо с одним атомом углерода и четырьмя атомами азота): отесеконазол единственный тетразол, одобренный FDA в апреле 2022 года. Он проявляет активность против большинства видов, связанных с рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом. Он показал эффективность против *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kruse*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitania* и *C. dubliniensis* [49].

Азолы, как правило, являются фунгистатическими, за исключением вориконазола, который обладает фунгицидной активностью против *A. fumigatus*. Кроме того, некоторые виды *Candida*, включая *C. glabrata* и *C. kruse*, по своей природе менее восприимчивы к азолам [31].

2.3.3 Эхинокандины

Каспофунгин был первым эхинокандином, одобренным для терапии заболеваний человека в 2001 году, за ним последовал микафунгин в 2005 году и анидулафунгин в 2006 году [50, 51].

Эхинокандины обладают фунгицидным действием, действуя как неконкурентные ингибиторы β -1,3 глюкансинтазы, важного ферментного комплекса для синтеза клеточной стенки у грибов. Ингибирование этого фермента приводит к нарушению целостности клеточной мембраны с последующим лизисом клеток грибов [52]. Клетки человека не содержат β -1,3-глюкана, что делает эту мишень уникальной для грибов, и, таким образом,

эхинокандины значительно менее токсичны по сравнению с другими антимикотиками [53]. Кроме того, они обладают широким спектром действия и синергетическим эффектом в комбинированной терапии. Эхинокандины в настоящее время часто рекомендуются в качестве препаратов первой линии при многих инвазивных инфекциях, вызванных грибами [50].

Эхинокандины эффективны против различных видов *Candida*, включая резистентные к флуконазолу штаммы, а также подавляют рост грибов рода *Aspergillus*. Они высокоэффективны при лечении кандидоза пищевода, кандидемии и инвазивного кандидоза.

2.3.4 5-фторцитозин

Флуцитозин (или 5-фторцитозин) (5-FC) является единственным одобренным антифунгальным препаратом, относящимся к антиметаболитам. 5-FC был первоначально синтезирован как потенциальный противоопухолевый препарат, а затем получил одобрение для терапии вызванных грибами заболеваний человека в 1968 году [54].

Флуцитозин транспортируется в клетки грибов ферментом цитозиновой пермеазой. Как только вещество попадает в клетку, оно преобразуется цитозиндезаминазой в активную форму 5-фторурацил (5-FU) в клетках [55]. 5-FU встраивается в цепь РНК, конкурируя с урацилом, нарушая синтез РНК и вмешиваясь в синтез белка [56]. 5-FU также ингибирует синтез ДНК в клетках грибов путем блокировки тимидилатсинтазы, которая катализирует синтез тимидина, необходимого для репликации ДНК [56].

Селективность флуцитозина в отношении клеток грибов обусловлена отсутствием цитозиндезаминазы в клетках млекопитающих [57]. Широко распространенное развитие резистентности является серьезной проблемой флуцитозина, в связи с чем, он не используется в качестве монотерапии и применяется исключительно в сочетании с другими антифунгальными препаратами [58]. Например, он используется с амфотерицином В в качестве

комбинированной терапии для лечения системных микозов, таких как криптококкоз, кандидоз, хромобластомикоз и аспергиллез. Кроме того, его комбинируют с азольными антифунгальными препаратами для лечения криптококкового менингита [59].

2.3.5 Новый класс антифунгальных препаратов

Ибрексафунгерп относится к классу тритерпеноидных антифунгальных препаратов. Он был одобрен в 2021 году для лечения вульвовагинального кандидоза [60]. Он работает путем ингибирования β -(1,3)-D-глюкансинтазы. Хотя его механизм действия аналогичен эхинокандинам, он имеет существенные отличия в структуре, что дает возможность эффективно использовать его против штаммов *Candida*, устойчивым к эхинокардинам [61]. Это соединение обладает широким спектром фунгицидной активности, эффективно борясь с различными видами *Candida*, включая *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* и *C. tropicalis* [62].

2.4 Устойчивость к современным антифунгальным препаратам

Устойчивость к современным антифунгальным препаратам является серьезной проблемой в здравоохранении. Развитие устойчивости к антифунгальным веществам обусловлено такими факторами, как длительное или неправильное использование лекарств, неоптимальная дозировка и естественная способность грибов адаптироваться. Патогенные грибы развили различные молекулярные механизмы, чтобы противостоять существующим антимикотикам [63].

2.4.1 Снижение эффективной концентрации препарата

2.4.1.1 Образование биопленки или секвестрация лекарственного средства

Грибковая биопленка представляет собой структурированное сообщество клеток грибов, встроенных в самостоятельно производимый внеклеточный матрикс, состоящий из полисахаридов, белков и других веществ. Образование биопленки является ключевой стратегией выживания

грибов, позволяющей им прилипать к поверхностям, защищать себя от стрессов окружающей среды и повышать устойчивость к антифунгальным средствам [64].

В определенных условиях роста компоненты внеклеточного матрикса биопленки грибов патогена могут связывать антимикотики, таким образом, препятствовать достижению антифунгальных препаратов их предполагаемых клеточных мишеней. Кроме того, мертвые клетки в биопленке могут снабжать соседние клетки питательными веществами или посылать сигналы тревоги, побуждая выжившие клетки превентивно адаптироваться к стрессу [65]. Кроме того, они могут поглощать токсичные соединения, позволяя выжившим клеткам продолжать размножаться [65]. Многие важные с медицинской точки зрения грибы образуют биопленки, в том числе *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Coccidioides* и *Pneumocystis* [66].

2.4.1.2 Повышение уровня продукции трансмембранных экспортеров

Существует два основных класса трансмембранных транспортеров: ABC-транспортеры (ATP-binding cassette, АТФ-связывающие кассетные белки), которые требуют гидролиза АТФ для своей работы, и белки семейства MFS (Major Facilitator Superfamily, Основное семейство белков-посредников), которые транспортируют соединения через плазматическую мембрану с помощью электрохимического градиента [67-69]. Оба класса транспортеров играют решающую роль в движении молекул через клеточные мембраны, способствуя регуляции внутриклеточных концентраций ионов, питательных веществ и других соединений [70]. Повышенная экспрессия транспортеров токсичных веществ приводит к повышению эффективности откачивания их из клетки [71].

Этот механизм устойчивости к антифунгальным препаратам не обнаруживается в изолятов грибов, устойчивых к эхинокандинам или полиенам, поскольку они не являются субстратами насосов оттока и

проявляют фунгицидную активность на внешней стороне клетки [72]. С другой стороны, у многих *Candida* spp сообщалось о резистентности к азолу и 5-флуцитозину из-за повышенной экспрессии такого транспортера [73, 74].

2.4.1.3 Повышение экспрессии генов, кодирующих продукты-мишени лекарственных средств

Патогенные грибы могут противостоять активности антифунгальных препаратов, повышая регуляцию своих генов-мишеней, что приводит к гиперэкспрессии белков-мишеней. Это ухудшает эффективность антимикотиков, потому что эффективную концентрацию препарата необходимо увеличить, чтобы отключить все молекулы-мишени [75]. Например, резистентность к азолу связана с повышением регуляции *ERG11* и *Cyp51A* у *C. albicans* и *A. fumigatus* соответственно [76, 77].

2.4.1.4 Инактивация метаболических путей клетки, обеспечивающих трансформацию нетоксичных соединений в вещества с антифунгальной активностью

5-Флуцитозин (5-FC) всегда используется в комбинации с антифунгальными препаратами амфотерцин Б и триазолиз из-за быстрого развития резистентности [78]. Одним из распространенных механизмов резистентности 5-FC являются мутации в ферменте цитозиндезаминазе, ответственном за активацию 5-флуцитозина в его активную форму 5-фторурацила (5-FU). Эта мутация наблюдалась у *C. albicans* (кодируется геном *FCA1*) и *C. glabrata* (кодируется геном *FCY1*), приводя к резистентности к 5-FC [55, 79, 80].

2.4.2 Изменение мишени антифунгального препарата

В литературе описан такой механизм резистентности, как изменения в мишенях лекарственных средств, по крайней мере, для двух классов антимикотиков, включая азолы и эхинокандины. Азольные антифунгальные препараты ингибируют синтез эргостерола, воздействуя на фермент ланостерол 14- α -деметилазу, кодируемый *ERG11* у *C. Albicans* и

Cyp51A/Cyp51B у *A. fumigatus*. Мутации в гене *ERG11*, приводящие к несинонимичным аминокислотным заменам, характерны для азол-резистентных изолятов *C. albicans* из-за снижения сродства фермента-мишени к азолам [81]. Мутация *CYP51A* хорошо охарактеризована как приводящая к резистентности к триазолам у *A. fumigatus*, например, кодирует замены аминокислот в канале доступа лиганда (G54, P216, F219, M220) или возле каталитического сайта (Y121, G138) [82]. Эхинокандины ингибируют β -1,3-глюкановые синтазы, кодируемые генами *FKS* у разных видов грибов. Сообщалось о резистентности к эхинокандину у клинических изолятов *C. glabrata*, несущих мутации в генах *FKS1* или *FKS2* (гомолог *FKS1*) [75].

2.4.3 Шунтирование метаболических путей

Одним из механизмов устойчивости к антифунгальным препаратам является изменение метаболических путей с целью обхода отдельных блокируемых метаболических этапов. Метаболическое шунтирование является компенсаторным механизмом, который обходит ингибирующее действие антифунгальных препаратов. Например, остановка роста клеток грибов азолами обусловлена ингибированием 14- α -ланостериндеметиلاзы и накоплением токсичного продукта 14 α -метил-3,6-диола, что приводит к уменьшению количества эргостерола в клеточной мембране гриба. Мутация гена *ERG3* препятствует образованию 14 α -метил-3,6-диола, вместо этого образуется нетоксичный 14 α -метилфёкостерол, что в итоге снижает влияние азолов на путь биосинтеза эргостерола [83].

2.5 Антифунгальные препараты, применяемые в клинической практике

Разработка новых антимикотиков имеет решающее значение для борьбы с резистентностью к таким препаратам. На данный момент различные новые соединения исследуются в доклинических и клинических испытаниях. У некоторых из них механизм действия схож с уже известными, но исследуемые вещества обладают более высокой эффективностью или же измененной

структурой молекулы. Например, существуют новые препараты, действие которых нацелено на клеточную стенку грибов, такие как резафунгин (ранее CD101) – эхинокандин с увеличенным периодом полувыведения [84]. У других перспективных антифунгальных препаратов механизм действия совершенно новый, не исследованный ранее. К ним можно отнести Фосманогепикс (ранее APX001), ингибитор инозитол-ацилтрансферазы Gwt1 в пути биосинтеза гликозилфосфатидилинозитола, который необходим для закрепления маннопротеинов в клеточной стенке грибов [85]; F901318 (Олорофим), ингибитор дигидрооротатдегидрогеназы, нацеленный на биосинтез de novo пиримидина [86]. Также к перспективным кандидатам относят ауреобазидин А, циклический пептид, ингибирующий биосинтез сфинголипидов грибов [87], и ариламидин Т-2307 от Toyama Corporation, эффективный против дрожжей и плесени, избирательно нарушает митохондриальную функцию дрожжей, ингибируя комплексы дыхательной цепи. [88, 89].

2.6 Использование *S. cerevisiae* в качестве модельного организма для исследования механизмов действия перспективных антимикотиков

Исследование механизмов действия новых антифунгальных соединений имеет большой прикладное значение, поскольку позволяет более направленно изменять свойства перспективных молекул при создании лекарственной формы, а также понимать возможные побочные эффекты. Кроме того, исследование биологически активных молекул часто оказывается полезным для изучения различных биологических путей и их дальнейшей регуляции. Одним из ярких примеров является рапамицин, который изначально был выявлен как молекула с сильным антимикотическим эффектом [90-92]. Изучение его механизма действия привело к открытию одного из важнейших путей клеточного сигналинга, и применению этого вещества в качестве лекарственного средства [93, 94].

Понимание механизмов действия новых антифунгальных соединений помогает не только в открытии новых лекарств, но и в разработке инструментов для изучения целевых биологических путей и их дальнейшей регуляции. Использование геномных и протеомных методов на модельных дрожжах *S. cerevisiae* доказало свою эффективность в выявлении путей-мишеней лекарственных средств [95-97].

2.6.1 Преимущества использования дрожжей *S. cerevisiae* в качестве модельного организма и системы для разработки антифунгальных препаратов

Почкующиеся дрожжи *S. cerevisiae* служат удачной биологической моделью для молекулярных исследований благодаря своей одноклеточной природе, компактному геному, насчитывающему около 6000 генов, и жизненному циклу, хорошо подходящему для классических генетических исследований [98]. Более того, его небольшой размер, быстрое время генерации (1,5-2 часа), низкая стоимость культивирования и минимальные этические проблемы способствуют его преимуществам перед другими модельными организмами или патогенными грибами.

Схожесть клеточных процессов дрожжей и высших организмов, особенно тех, которые касаются фундаментального клеточного метаболизма и деления, укрепляет их роль в качестве первичной модели эукариот. Анализ геномов дрожжей и человека выявил значительное совпадение аминокислотных последовательностей между белками дрожжей и человека. Более того, *S. cerevisiae* в значительной степени непатогенен, но сохраняет значительное генетическое сходство с несколькими патогенными штаммами дрожжей, включая *Candida albicans* и, в меньшей степени, *Aspergillus fumigatus* [98].

Использование *S. cerevisiae* в качестве модельного организма дает существенные преимущества благодаря простоте манипуляций и экспериментов, а также обилию доступных данных. Например, база данных

генома *Saccharomyces* (SGD, <http://www.yeastgenome.org>) служит всеобъемлющим хранилищем информации о генах *S. cerevisiae* и генной онтологии (GO) [99], а база Yeast Search for Transcriptional Regulators and Consensus Tracking (YEAstract; www.yeastract.com), предоставляет данные связи между транскрипционными факторами (ТФ) и генами-мишенями у *S. cerevisiae* [100]. Примеры основных подходов для исследования биологически-активных веществ, в т.ч. антимикотиков с применением *S. cerevisiae* приведены ниже.

А) Транскрипционное профилирование: Этот метод использует микрочипы ДНК или секвенирование РНК для сравнения транскриптов, которые клетки дрожжей производят в ответ на обработку антифунгальным препаратом или растворителем. Этот подход оценивает изменения в уровнях экспрессии генов между необработанными и обработанными клетками. Идентификация активированных и супрессированных систем клетки дает ценную информацию о том, какой стресс вызывает то или иное вещество, а также о потенциальных взаимодействиях между путями ответа на лекарственные препараты [101-103].

Б) Скрининг с использованием коллекций дрожжевых штаммов с гиперэкспрессией генов: коллекция дрожжей с гиперэкспрессией генов включает штаммы, в которых отдельные гены помещены под контроль сильного индуцируемого промотора, что приводит к гиперэкспрессии этих генов. Она помогает изучать эффекты увеличенной дозировки генов. Клетки трансформируются библиотекой гиперэкспрессированных генов и культивируются в присутствии высоких концентраций антифунгальных соединений. Выжившие клетки проявляют устойчивость, и ген, ответственный за эту устойчивость, идентифицируется с помощью определения нуклеотидной последовательности вставки в плазмиду. Основное преимущество этого метода - прямая связь между путями развития

резистентности к лекарственным препаратам и способом их действия [104, 105].

В) Скрининг с использованием коллекций дрожжевых мутантов с удалением генов: Этот подход включает в себя использование коллекций мутантов, в каждом из которых удален один ген, для идентификации генов, необходимых для конкретного биологического процесса, или для проверки влияния различных генетических делеций на ответ на специфическое воздействие противогрибкового препарата [106, 107].

Штаммы, у которых отсутствуют гены, связанные с мишенями для антифунгальных препаратов, часто более чувствительны к этим препаратам. Более того, этот подход позволяет определять чувствительные к воздействию антифунгальных препаратов клеточные функции и выявлять генетические взаимодействия между путями, запускающимися в ответ на воздействие. Кроме того, скрининг помогает идентифицировать гены, имеющие решающее значение для адаптации к лекарственным препаратам или защиты от них. [96, 108, 109].

2.6.2 *S. cerevisiae* как скрининговая платформа в хеногеномике

Хеногеномика изучает взаимодействие между малыми молекулами (как правило, химическими соединениями) и биологическими системами, особенно на уровне генов и генных продуктов, для выяснения механизмов действия влияния химических соединений и лекарственной устойчивости на клетки [97]. В основе хеногеномики лежит сравнение роста генных делетантов в присутствии и отсутствии химического вещества [110].

Существенный прорыв в функциональной геномике дрожжей произошел с созданием библиотек, содержащих гетерозиготные и гомозиготные делеционные штаммы, предполагающие делецию одной или обеих копий конкретного гена [11, 111]. Эти библиотеки отличаются уникальными штрих-кодами, присвоенными каждому штамму, что позволяет

проводить эксперименты по конкурентному росту. Быстрая количественная оценка облегчается методами гибридизации, такими как микрочипы или методы секвенирования [112].

Важно отметить, что эта стратегия использования штаммов дрожжей с делецией, в каждом из которых удален определенный ген, способствовала разработке дополнительных инструментов для протеомных исследований в масштабе всего генома, таких как коллекция с зеленым флуоресцентным белком (GFP-меченная коллекция) [17].

2.7 Протеомика на основе масс-спектрометрии для разработки новых антифунгальных препаратов

Протеомика на основе масс-спектрометрии высокого разрешения (МС) очень эффективна для анализа и измерения количества отдельных белков в клетках, органах или тканях [113]. В контексте разработки антифунгальных препаратов этот подход включает использование МС для идентификации и изучения белков, участвующих в механизмах вирулентности и лекарственной устойчивости грибов. Изучая протеомные профили и то, как они изменяются в ответ на обработку антифунгальными препаратами, исследователи могут определить потенциальные мишени для лекарств, механизмы действия и способы преодоления лекарственной устойчивости. Существует 3 различных типа МС-протеомики:

А) Протеомика «снизу вверх» (англ. bottom-up), предполагает расщепление белков на более мелкие фрагменты посредством ферментативного расщепления перед их анализом на масс-спектрометре [114].

Б) Протеомика «сверху вниз» (англ. top-down) напрямую анализирует интактные белки без предварительного ферментативного расщепления, стремясь идентифицировать протеоформы, возникающие в результате таких изменений, как альтернативный сплайсинг, посттрансляционные модификации и генетические мутации [115].

В) Таргетная протеомика фокусируется на селективном количественном определении заранее определенного набора белков или пептидов в сложном образце. Для количественного определения целевых белков с высокой чувствительностью и точностью используется мониторинг выбранных реакций (selected reaction monitoring, SRM) или мониторинг параллельных реакций (parallel reaction monitoring, PRM). Целевая протеомика измеряет заранее определенный пептид, сначала выделяя родительский ион по его массе в Q1, затем вызывая столкновение ионов в Q2 и, наконец, фильтруя полученный ион продукта по массе в Q3 для идентификации и количественного определения специфических белков и биомаркеров. Этот подход часто используется для проверки биомаркеров, анализа путей или мониторинга конкретных биологических процессов [116].

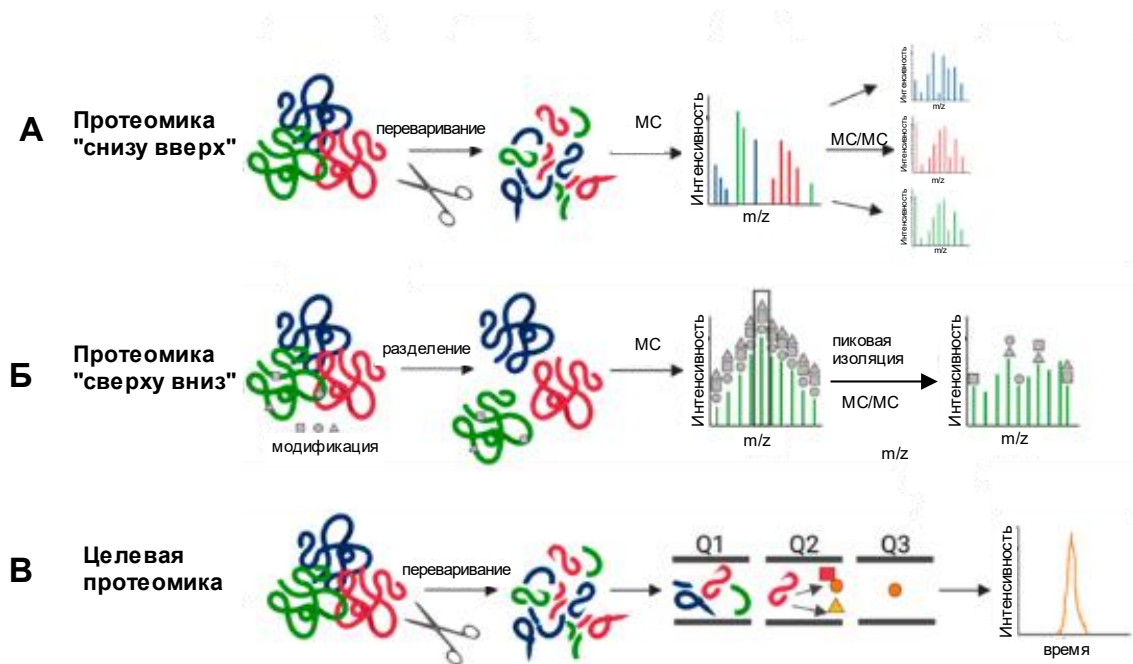


Рисунок 1 - Основные типы протеомики, основанной на применении МС. А) Протеомика "снизу вверх" анализирует пептиды, полученные путем энзиматического гидролиза, для идентификации и количественного анализа белков. Б) Протеомика "сверху вниз" включает анализ интактных белков. В) Прицельная протеомика обнаруживает заранее определенный пептид.

Soste et al. оптимизировали протеомные скрининговые методы, чтобы объединить преимущества существующих тестов и предоставить точные, воспроизводимые количественные данные без необходимости дополнительной валидации. Кроме того, он позволяет одновременно оценивать состояние активности нескольких биологических процессов с высокой пропускной способностью. Этот метод основан на использовании сигнальных белков, которые действуют как маркеры определенных биологических процессов или условий в клетке или организме. Количество этих белков изменяется в ответ на активацию или модуляцию определенных клеточных путей. Отслеживая уровень продукции или модификации маркерного белка, исследователи могут получить представление о клеточной реакции на различные биологические события, такие как развитие заболеваний, клеточный стресс или изменения окружающей среды [18]. Такой подход побудил нас рассмотреть возможность создания аналогичного метода на основе оценки изменения количества флуоресцентно-меченых белков.

2.8 Флуоресцентная проточная цитометрия для анализа белков в отдельных клетках

Проточная цитометрия является биомедицинским методом, используемым для качественного и количественного анализа физических и химических характеристик частиц, обычно клеток, в потоке жидкости. Принцип проточной цитометрии состоит в быстром измерении параметров флуоресценции и светорассеяния отдельных клеток или других объектов сходного размера. Анализ флуоресценции отдельных клеток происходит за счет их помещения в ламинарный поток жидкости, которым легко манипулировать для фокусировки клеток в одну тонкую струю, в которой индивидуальные клетки располагаются достаточно далеко от друга и при этом проходят на нужном для анализа расстоянии от детектора. Это позволяет корректно оценивать параметры каждой клетки с высокой точностью [117].

Проточный цитометр состоит из жидкостной системы, источника освещения, оптического стенда и электронных систем (рисунок 2). Короче говоря, клетки подвешиваются в жидкости и вводятся в узкий, быстро текущий поток. Затем клетки проходят по очереди через лазерный. Когда каждая клетка проходит через лазерный луч, он рассеивает свет в нескольких направлениях. Измерение прямого рассеяния (FSC) вдоль лазерного луч позволяет определить размер клетки, в то время как измерение бокового рассеяния (SSC) под углом 90° относительно лазера полезно для определения сложности внутренней организации (например, зернистости) клетки [118].

Флуоресцентный свет также может быть использован в проточной цитометрии для сортировки клеток. Когда меченые клетки проходят сквозь луч лазера, они излучают флуоресцентный сигнал, который затем направляется на соответствующий детектор. Это позволяет измерять интенсивность флуоресценции, давая представление о присутствии и количестве конкретных флуоресцентных молекул в клетках. Фотодиоды и фотоумножители (PMTs) преобразуют свет в электронные сигналы для анализа данных с помощью специализированного программного обеспечения, которое генерирует диаграммы рассеяния и гистограммы, отображающие распределение клеточных популяций на основе различных параметров [119].

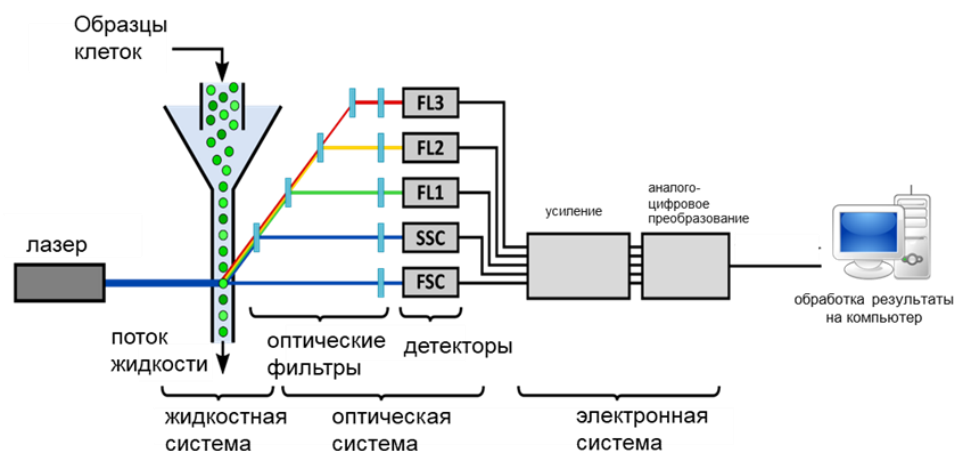


Рисунок 2 - Схема устройства проточного цитометра [108].

2.8.1 Проточная цитометрия в разработке антифунгальных препаратов

Проточная цитометрия — это мощный аналитический метод, который широко используется в различных научных областях, включая клеточную биологию, микробиологию и биотехнологию [120]. Он может быть использован в контексте исследований в сфере поиска и описания антифунгальных препаратов.

2.8.1.1 Изучение жизнеспособности клеток с помощью проточной цитометрии

Изменения жизнеспособности и пролиферации клеток грибов в ответ на антифунгальные препараты можно оценить с помощью проточной цитометрии с использованием флуоресцентных красителей. Наиболее распространенными красителями являются йодид пропидия (PI) для изучения гибели/некроза клеток путем связывания с нуклеиновой кислотой. PI - это флуоресцентный краситель, используемый в анализах жизнеспособности клеток для различения живых и мёртвых клеток на основе целостности мембраны. Он не может проникнуть через интактные клеточные мембраны, поэтому входит и связывается с ДНК только мёртвых или умирающих клеток, вызывая яркое красное свечение, обнаруживаемое с помощью проточной цитометрии или флуоресцентной микроскопии. PI широко используется в таких приложениях, как анализы жизнеспособности клеток, исследования апоптоза и микроскопия для чёткого различения живых и мёртвых клеток [121]. Примеры испытаний жизнеспособности дрожжей и плесневых грибов с помощью проточной цитометрии приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Примеры испытаний жизнеспособности дрожжей и плесневых грибов с помощью проточной цитометрии.

Антифунгальные препараты	Тестовые виды	Продолжительность инкубации	Фторохроме*	Ссылки
Итраконазол Вориконазол	<i>Aspergillus</i> sp.	От 30 мин до 48 ч	FUN-1	[122]
Амфотерицин Б	<i>Aspergillus</i> sp.	3 ч	FUN-1	[123]
Итраконазол Вориконазол Амфотерицин Б	<i>A. fumigatus</i>	2, 3 ч	PI	[124]
Флуконазол Амфотерицин Б	<i>C. albicans</i>	2 и 4 ч	PI	[125]
Каспофунгин	<i>Candida</i> sp.	7 ч	АО	[126]
Флуконазол	<i>Candida</i> sp.	1 ч	FUN-1	[127]
Амфотерицин Б	<i>C. lusitaniae</i>	30 мин	DiOC5(3)	[128]

*PI, йодид пропидия; DiOC5(3), 3,3'-дипентилоксакарбоцианина йодид; FUN-1-1,2-хоро-4-(2,3-дигидро-3-метил-(бензо-1,3-тиазол-2-ил)-метилен)-1 фенилхинолина йодид; АО, акридиновый оранжевый

2.8.1.2 Анализ клеточного цикла

Проточная цитометрия является важным инструментом для изучения содержания клеточной ДНК и анализа клеточного цикла клеток грибов, обработанных антифунгальными препаратами [129]. В дополнение к определению количества ДНК (полиплоидной или анеуплоидной) клеточной популяции, он позволяет характеризовать клетки в основных фазах клеточного цикла (G0/G1, S и G2/M). Он также определяет количество апоптотических клеток на основе фракционного содержания ДНК [129, 130]. Характеристика содержания ДНК и изучение клеточного цикла зависят от использования флуоресцентных красителей, окрашивающих ДНК. Примерами красителей нуклеиновых кислот являются 4',6-диамидино-2-фенилиндол (DAPI), йодид пропидия (PI), 7-аминоактомицин D (7-AAD), красители SYBR Green, красители SYTOX и акридиновый оранжевый [131].

ДНК-красители различаются по требованиям к проницаемости клеток и гидролизу РНК. Красители, такие как DAPI, можно использовать для интактных клеток, окрашивая живые клетки за счет прямого связывания с ДНК. В отличие от них, красители, такие как пропидий йодид (PI) и 7-AAD, требуют проницаемости клеток, так как они не могут проникать через

неповрежденные клеточные мембраны. Кроме того, красители, такие как акридиновый оранжевый, выигрывают от гидролиза РНК, что улучшает их специфичность, позволяя четче различать ДНК благодаря удалению РНК. Эти красители используются для различных применений в проточной цитометрии, микроскопии и оценках жизнеспособности клеток [132, 133].

2.8.1.3 изучение механизма действия антифунгальных препаратов

Проточная цитометрия может быть использована для изучения механизма действия антифунгальных препаратов разными способами. Во-первых, фунгицидные и фунгистатические эффекты можно различить, комбинируя окрашивание на жизнеспособность (например, красители PI или SYTOX) с антифунгальными препаратами для оценки жизнеспособности клеток и обнаружения мертвых клеток [134].

Во-вторых, изучая изменения клеточных параметров, исследователи могут понять, как лекарства вмешиваются в основные процессы грибов. Например, измерение изменений потенциала митохондриальной мембраны ($\Delta\Psi_m$) с помощью таких красителей, как JC-1 или TMRE, указывает на стресс или повреждение митохондрий, вызванное воздействием противогрибкового препарата [135]. Оценка изменений целостности мембраны с помощью красителей кальцеина AM или PI может дать ключ к пониманию клеточных реакций на стресс, вызванный антимикотиками. В-третьих, проточная цитометрия может быть использована для дифференциации апоптотического или некротического ответа на антифунгальные препараты с использованием окрашивания Annexin V в комбинации с PI [136]. Для оценки реакций на окислительный стресс, индуцированных антифунгальными препаратами, путем определения уровней внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) с помощью флуоресцентных зондов, таких как DCFDA (2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетат) [137].

В дополнение к использованию проточной цитометрии для изучения механизма действия антифунгальных препаратов, она может быть использована для оценки активности мембранных транспортеров, откачивающих токсические вещества из клетки, что является важнейшим аспектом устойчивости к антифунгальным препаратам. Внутриклеточное накопление флуоресцентных субстратов (например, родамина 6G и нильского красного), которые откачиваются такими транспортерами, может быть количественно определено с помощью проточной цитометрии [138], а также может быть измерена скорость их откачивания из клеток. Клетки с высокой активностью работы транспортера будут быстро терять способность флуоресценцировать, что указывает на эффективное откачивание лекарства [139].

Наконец, проточная цитометрия представляет собой привлекательную перспективу для поиска и разработки лекарств благодаря своей исключительной способности анализировать гетерогенные популяции клеток.

2.8.2 Проточная цитометрия флуоресцентно-меченых белков

Хотя метод проточной цитометрии традиционно не считается протеомным методом, метод может быть использован в качестве ценного инструмента в протеомных исследованиях, особенно в контексте одноклеточной протеомики и функциональной протеомики. Зеленый флуоресцентный белок (ЗФБ) (англ. green fluorescent protein, GFP) - это белок, содержащийся в медузе *Aequorea victoria*, который излучает зеленый свет при воздействии света. GFP естественным образом излучает свет, не нуждаясь в дополнительных веществах или кофакторах, избегая таких проблем, как проницаемость клеток и поглощения или удержания веществ [140].

Благодаря удобству генетических манипуляций, для *S. cerevisiae* создан целый ряд систематических коллекций, в которых практически каждый белок помечен GFP или другими флуоресцентными белками. Такие коллекции крайне удобны для многочисленных биологических исследований. Это

включает в себя анализ клеточных реакций на конкретные стимулы окружающей среды или условия роста, изучение влияния мутаций на локализацию и поведение белков-мишеней, выяснение сложных регуляторных путей, управляющих нацеливанием белков, исследование органеллярной протеомики и оценку белок-белковых взаимодействий [14, 141, 142].

Dr. Эрин О'Ши и Dr. Джонатан Вайсман из Калифорнийского университета в Сан-Франциско разработали коллекцию клонов Yeast GFP для *S. cerevisiae*. Эта коллекция штаммов дрожжей состоит из полноразмерных белков, помеченных GFP на их карбокситерминальных концах. Это было достигнуто путем вставки кодирующей последовательности *Aequorea victoria* GFP (в частности, варианта S65T) в кадр непосредственно перед стоп-кодом каждой открытой рамки считывания (ORF), которая представляет собой часть ДНК, способную преобразовываться в белок. При включении GFP непосредственно в белковую последовательность экспрессия меченых белков контролируется их естественными промоторами, которые представляют собой участки ДНК, регулирующие экспрессию генов [17]. Эта коллекция позволяет исследовать изменения количества любого белка при помощи флуориметрии суспензий и колоний клеток, а также с помощью проточной цитометрии. При помощи микроскопии также может быть определено как количество, так и локализация любого белка, для которого есть штамм с химерным белком.

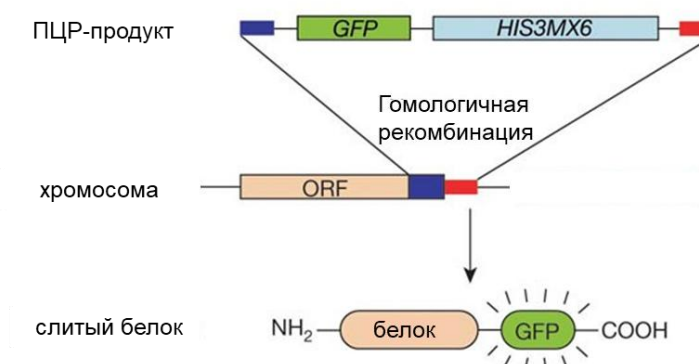


Рисунок 3 - Стратегия, использованная для создания систематической библиотеки штаммов, содержащих белки, меченые GFP. Схема модифицирована на основе [134].

2.9 Гетерогенность клеточного ответа на антифунгальные препараты

Анализ отдельных клеток и гетерогенность в клетках грибов являются важными областями исследований, раскрывающими сложность и разнообразие популяций грибов. Понимание этих концепций имеет решающее значение для получения информации о биологии грибов, патогенности и механизмах устойчивости.

Анализ отдельных клеток включает изучение индивидуальных клеток грибов для понимания их уникальных характеристик и поведения. Для анализа экспрессии генов, уровней белков и метаболических состояний на уровне отдельных клеток используются такие методы, как секвенирование РНК отдельных клеток (scRNA-seq), флуоресцентная активированная сортировка клеток (FACS) и микрофлюидика.

Фенотипическая гетерогенность клеток грибов - это различия в признаках или поведении отдельных клеток в генетически идентичной популяции. Эта гетерогенность может стать особенно очевидной, когда клетки грибов, происходящие из одного и того же клона, подвергаются вредным воздействиям окружающей среды, таким как антифунгальные препараты, изменения температуры или лишение питательных веществ.

Когда клональная популяция клеток грибов подвергается воздействию вредных условий, не все клетки реагируют одинаково. Некоторые клетки могут выжить и адаптироваться, в то время как другие могут погибнуть. Эта изменчивость обусловлена не генетическими различиями, а различиями в экспрессии генов, состоянии метаболизма и других фенотипических признаках.[143, 144].

Фенотипическая гетерогенность имеет значительное практическое значение. Помимо помощи выживанию в условиях экологического стресса, это явление также может быть значимым с точки зрения вирулентности, когда определенные клетки в популяции могут проявлять повышенную

патогенность или устойчивость к антифунгальным препаратам. Например, *C. albicans* может запустить мощный механизм толерантности к лекарствам, позволяя некоторым клеткам размножаться при концентрациях препаратов, превышающих их минимальную подавляющую концентрацию.[145-147].

Кроме того, гетерогенность с точки зрения клеточного ответа на антифунгальные препараты может включать гетерорезистентность, персистенцию и толерантность к антифунгальным препаратам [148].

Гетерорезистентность относится к сценарию, при котором подгруппа популяции грибов проявляет устойчивость к конкретному противогрибковому препарату, несмотря на то, что большая часть популяции обычно восприимчива в соответствии с обычными критериями тестирования на чувствительность [149, 150]. Он считается адаптивной реакцией и может быть обращен вспять, когда воздействие препарата уменьшается или прекращается [151]. Например, штаммы *C. neoformans* продемонстрировали гетерогенные паттерны резистентности к флуконазолу и вориконазолу в пределах клональных субпопуляций [152].

Гетерорезистентность наблюдалась при приеме фунгистатических препаратов (антифунгальных препаратов флуконазола, вориконазола и итраконазола), а не фунгицидных препаратов, таких как амфотерицин Б [153]. Кроме того, гетерорезистентность может быть как внутренней (без противогрибкового воздействия), так и приобретенной (развивающейся после первоначального воздействия антифунгальных препаратов) [151]. Аналогичным образом, персистенция относится к подмножеству клеток, которые демонстрируют временную более высокую толерантность к антифунгальным препаратам по сравнению с большинством популяции (дозозависимая персистенция) или существование субпопуляции толерантных микроорганизмов, обычно характеризующихся либо отсроченным началом роста, либо более медленными темпами роста по сравнению с большинством популяции (зависимая от времени персистенция) [145, 154].

Гетерорезистентность, толерантность и персистенность часто путают друг с другом, поскольку все они связаны с микробной адаптацией к стрессу. Однако, в то время как толерантность относится к целым популяциям, выживающим при высоких концентрациях антифунгальных препаратов, гетерорезистентность и персистенность встречаются в определенных субпопуляциях [155].

В рамках данной работы планируется разработать и применить подходы для изучения ответа индивидуальных клеток грибов на действие известных и новых веществ с антигрибковой активностью с целью характеристики механизма их действия. Для этого будет создана и охарактеризована панель штаммов дрожжей *S. cerevisiae*, продуцирующих GFP-меченные белки, что позволит оценивать ответ различных клеточных систем на антимикотики. Эта панель будет использована для изучения ответа клеток на вещества с известными и неизвестными механизмами действия. Будут выявлены белки, изменение уровня которых в ответ на антимикотики указывает на гетерогенность клеточной популяции. Кроме того, мутанты дрожжей *S. cerevisiae*, содержащие специфические делеции генов, участвующих в пути биосинтеза эргостерина, будут использованы для изучения различий между рядом новых производных полиеновых антифунгальных препаратов (амфотерицином, нистатином и натамицином) с повышенной растворимостью в воде.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Материалы исследования

3.1.1 Антифунгальные препараты и химические вещества

Сначала было проверено 30 новых синтезированных химических соединений на их антифунгальную активность. После этого были отобраны только те из них, которые показали антифунгальную активность (13 соединений). Антифунгальные препараты, выбранные для проверки действия на GFP-тегированные штаммы *S. cerevisiae*, и их источники перечислены в

Таблица 2. Эти препараты представляют собой 12 соединений: три соединения для лечения системных микозов (флуконазол, вориконазол и 5-фторцитозин), ионофор меди, родственный пиритиону цинка (2-меркаптопиридин-N-оксид (MP) и 11326083) и туникамицин, механизмы действия которых известны, а также несколько соединений, механизмы действия которых неизвестны.

Таблица 2 - Химические соединения, использованные в данном исследовании для проверки их влияния на штаммы *S. cerevisiae* с GFP-меткой.

Наименование препарата	Целевой клеточный процесс	Исходный раствор*	Источник
5-фторцитозин (5-FC)	Биосинтез нуклеиновых кислот	15мг/мл в воде	Сигма-Олдрич (США)
Флуконазол (Flu)	Биосинтез эргостерола	20мг/мл в воде	Сигма-Олдрич (США)
Вориконазол (Vor)	Биосинтез эргостерола	20мг/мл в воде	Пфайзер (США)
2 меркаптопиридин-N-оксид (MP)	Ингибирование роста клеток за счет накопления в клетках ионов меди и/или цинка	10мг/мл в воде	Thermo Fisher Scientific (Великобритания)
11326083	неизвестный	23мг/мл в ДМСО	Синтезировано в Федеральном центре биомедицинск-ой химии и биотехнологии

Микозидин (Мусо)	неизвестный	28мг/мл в ДМСО	Синтезировано в Институте новых антибиотиков им. Гаузе
3-бензоильное производное микозидина (3В-Мус)	неизвестный	17мг/мл в ДМСО	Синтезировано в Институте новых антибиотиков им. Гаузе
L-173	неизвестный	40мг/мл в ДМСО	Синтезировано в Институте новых антибиотиков им. Гаузе
Туникамицин	Синтез гликопротеинов	5мг/мл в воде	MP Biomedicals (Франция)
Додecilсульфат натрия (SDS)	Неизвестный	10%-ный исходный раствор	Dia-m (Россия)
3'-амино-N4-додecil-5-метил-2',3'-дидезоксицитидин (SOV4)	неизвестный	5мг/мл в ДМСО	От института молекулярной биологии Лаборатория молекулярных основ действия физиологически активных соединений
3'-диметиламино-N4-дecil-5метил-2',3'-дидезоксицитидин (SOV8)	неизвестный	6,7мг/мл в ДМСО	От института молекулярной биологии Лаборатория молекулярных основ действия физиологически активных соединений
N4-додecil-2'-дезоксицитидин (Ala-54)	неизвестный	5,8мг/мл в ДМСО	От института молекулярной биологии Лаборатория молекулярных основ действия физиологически активных соединений

* Не более двух месяцев исходные растворы выдерживали в замороженном состоянии при температуре -20 С.

Кроме того, было проверено влияние модификаций химической структуры на активность полиеновых антифунгальных препаратов и их производных с использованием мутантных штаммов *S. cerevisiae* BY4741. Натамицин (Nata) был приобретен у компании abcr GmbH (Карлсруэ, Германия). Амфотерицин Б (AmpB) и нистатин (Nys) были приобретены у компании Сигма-Олдрич (Merck KGaA, Дармштадт, Германия). Полусинтетические производные амидов натамицина (LCTA3282 и

LCTA3115), производные амфотерицина Б (LCTA3114, LCTA3283 и LCTA3315) и производные нистатина (LCTA3285, LCTA3255 и LCTA3317) были синтезированы в соответствии с методиками, опубликованными нашими коллегами из Института новых антибиотиков им. Гаузе. Амфотерицин использовался в начальной концентрации 12 мг/мл в воде, другие полиены и их амидные производные были приготовлены в начальной концентрации 10 мг/мл в ДМСО.

Диметилсульфоксид (ДМСО) был приобретен у компании Belle Chemical (Биллингс, США) и использовался в качестве растворителя для большинства химических веществ, используемых в исследовании.

Йодистый пропиций (PI) был приобретен у компании Sigma-Aldrich (Merck KGaA, Дармштадт, Германия). Исходный раствор готовили в концентрации 1 мг/мл в воде, хранился при -20°C в темноте.

Гидроксимочевина (HU) была приобретена у компании Formedium Ltd (Норфолк, Англия). Основной раствор готовили путем растворения 0,76 г в 10 мл воды. Аликвоты хранили в пробирках объемом 1,5 мл при температуре -20°C. Гидроксимочевина использовалась для остановки стадий клеточного цикла в S-фазе.

3.1.2 Питательные среды и штаммы

3.1.2.1 Штамм дрожжей, используемый для тестов на чувствительность

Использовали гаплоидный штамм дикого типа *S. cerevisiae* BY4741 (*MATa his3Δ1 leu2Δ0 met15Δ0 ura3Δ0*). Клетки культивировали при температуре 25°C в полной питательной среде (YPD) (1 % дрожжевого экстракта Bacto (BD Biosciences, San Diego, USA), 2 % бактопептона (BD Biosciences) и 2 % глюкозы (Wako Pure Chemical Industries)). Для приготовления твердых сред также добавляли агар (2 % масса/объем [156]). Для

хранения дрожжевых штаммов при -80 °C использовали питательную среду YPD с добавлением глицерина (15% объем/объем).

3.1.2.2 Штаммы дрожжей, используемые в экспериментах SCRAPPY (одноклеточный экспресс-анализ возмущения протеома в дрожжах)

Для изучения клеточной реакции на стресс, вызванный различными антифунгальными соединениями были использованы штаммы систематической дрожжевой коллекции [17], на основе штамма *S. cerevisiae* BY4741, содержащие С-концевые GFP-метки на интересующих нас белках. Гены, кодирующие эти белки, модифицировались в геноме на их 3'-конце, что соответствует С-концу белка, т. е. регуляторные участки генов были идентичны таковым у белков дикого типа. Модификация 3'-конца гена также содержала гетерологичный ген *HIS5 Schizosaccharomyces pombe*, который комплементирует делецию гена *HIS3* в *S. cerevisiae*. Из систематической дрожжевой коллекции было использовано 64 штамма, продуцирующих белки, помеченных GFP. Выбор этих белков был основан на списке белков, проанализированных группой Пикотти [18], с некоторыми модификациями. Панель включает белки биосинтеза и катаболизма аминокислот, репарации ДНК, углеводного обмена, биосинтеза липидов, окислительного стресса, активации путей термотолерантности и покоя. Полный список штаммов *S. cerevisiae*, использованных в данном исследовании, представлен в таблице 3.

Таблица 3 - Белки, включенные в панель для SCRAPPY, и дополнительные анализируемые белки.

Категория	Белок	Краткое описание
Метаболизм/катаболизм аминокислот	Gcv2	расщепляет глицин путем окислительного расщепления
	His7	Участвует в биосинтезе гистидина
	Trp3	Участвует в биосинтезе ароматических аминокислот
	Aro2	Участвует в биосинтезе ароматических аминокислот
	Lys1	Участвует в биосинтезе лизина
	Hom2	Участвует в биосинтезе метионина и треонина
	Aro3	Участвует в биосинтезе ароматических аминокислот
	Car1	Обеспечивает гидролиз аргинина до орнитина и мочевины
	Sam4	Участвует в биосинтезе метионина
	Sui2	Участвует в остановке трансляции при стрессе
	Gcv3	Участвует в катаболизме глицина
Синтез ДНК	Rnr4	Малая субъединица рибонуклеотид-дифосфатредуктазы (RNR)
Углеводный обмен / Метаболизм глюкозы	Pdc1	Участвует в катаболизме аминокислот и ферментации глюкозы в этанол
	Pyc2	Превращение пирувата в оксалоацетат
	Tps3	участвует в биосинтезе трегалозы
	Tsl1	участвует в биосинтезе трегалозы
	Pgm2	Превращение глюкозо-1-фосфата в глюкозо-6-фосфат
	Ald4	участвует в метаболизме этанола, метаболизме пируватов, биосинтезе ацетата и регенерации NADPH.
	Hxk1	фосфорилирует глюкозу, маннозу и фруктозу
	Pda1	участвует в биосинтезе ацетил-КоА из пирувата

	Idp1	катализирует окисление изоцитрата до альфа-кетоглутарата
	Tal1	Участник неокислительного пентозофосфатного пути
	Hxt3	Транспортер глюкозы
Секреция белка	Pmi40	катализирует взаимопревращение фруктозы-6-Р и маннозы-6-Р (в процессе маннозилрования)
Митоген-активируемая протеинкиназа (МАР-киназа)	Cwp1	Белок клеточной стенки
Метаболизм	Mdh2	участвует в глюконеогенезе
Биосинтез липидов	Erg3	С-5 стеролдесатураза, участвующая в пути биосинтеза эргостерола
	Erg10	Ацетил-СоА С-ацетилтрансфераза, способствующая биосинтезу эргостерола
	Lsc1	Альфа-субъединица сукцинил- СоА -лигазы
Транспорт	Pdr5	Мембранный транспортер ксенобиотиков, экспортирующий ряд веществ из клетки
Метаболизм/катаболизм азота	Dur1	катализирует деградацию мочевины до карбамида-1-карбоксилата
	Uga1	участвует в путях деградации 4-аминобутирата и глутамата;
Осмотический баланс	Gpd2	НАД-зависимая глицерол-3-фосфатдегидрогеназа
	Hog1	Митоген-активируемая протеинкиназа, участвующая в осморегуляции
	Gpd1	НАД-зависимая глицерол-3-фосфатдегидрогеназа; Ключевой фермент синтеза глицерина
Окислительный стресс	Ahp1	Алкилгидропероксидредуктаза
	Grx1	Бифункциональная глутатионпероксидаза и глутатионтрансфераза
	Uth1	Белок, участвующий в митофагии и биогенезе клеточной стенки
	Yhb1	Оксидоредуктаза оксида азота
	Tsa1	Шапероно- и рибосомно-ассоциированный и свободный цитоплазматический антиоксидант

	Sod1	Супероксиддисмутаза
	Trx2	Цитоплазматический изофермент тиоредоксина
Фолдинг белков	Ssa1	АТФ-связывающий белок семейства Hsp70
	Ssa2	АТФ-связывающий белок семейства Hsp70
	Ssa4	АТФ-связывающий белок семейства Hsp70
Белки ассоциированные с состоянием клеточного покоя	Ypk1	Дрожжевая протеинкиназа
	Pnc1	Пиразинамидаза и никотинамидаза
	Hsp12	Липидсвязывающий белок, участвующий в организации плазматической мембраны
	Sti1	Hsp70 и Hsp90-связывающий белок и ингибитор АТФазы
	Bat2	Аминокислотная аминотрансфераза с разветвленной цепью
	Tdh1	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа
Белки ассоциированные с обеспечением устойчивости к тепловому шоку	Hsp104	Дезагрегация аденозинсвязывающего белка
	Hsp78	Дезагрегация аденозинсвязывающего белка (митохондриальная)
	Nth1	Нейтральная трегалаза, разлагает трегалозу
	Sse1	Пептидный и АТФ-связывающий аденилнуклеотидный фактор обмена
	Hsc82	Цитоплазматический шаперон семейства Hsp90
	Tps1	Трегалоза-6-фосфатсинтаза
	Nsr1	Связывающий белок последовательности ядерной локализации
	Pgk1	Фосфоглицераткиназа, участвующая в гликолизе и глюконеогенезе
	Hsp42	Малый белок теплового шока с шаперонной активностью;
	Aha1	Активатор АТФазы, связывающий шаперон, участвующий в фолдинге белков
	Hsp26	Малый белок теплового шока (HSPs) с шаперонной активностью;
	Ydj1	Hsp40-семейный сопровождающий

Деградация белка	Pre4	Бета-7 субъединица 20S протеасомы
Сигналинг связанный с фосфорилированием	Bmh1	Фосфосерин связывающий происхождение
Аутофлуоресцентный контроль	BY4741	отсутствие экспрессии GFP
Белки гистонов	Hhf1*	Гистон H4; основной гистоновый белок, необходимый для сборки хроматина и функционирования хромосом
	Hhf2*	
	Hho1*	Гистон H1, линкерный гистон, играющий роль в мейозе и споруляции
	Hht1*	Гистон H3; основной гистоновый белок, необходимый для сборки хроматина
	Hht2	
	Hta1*	Гистон H2A; основной гистоновый белок, необходимый для сборки хроматина и функционирования хромосом
	Hta2*	
	Htb1*	Гистон H2B; основной гистоновый белок, необходимый для сборки хроматина и функционирования хромосом
	Htb2*	
	Htz1*	Вариант гистона H2A.Z; участвует в регуляции транскрипции через предотвращение распространения молчащего гетерохроматина
Протеотоксический стресс в эндоплазматическом ретикулюме	Kar2*	АТФаза, участвующая в импорте белка в ЭПР; также действует как шаперон, опосредующий сворачивание белка в ЭПР
	Kar2pro-RFP*	То же, что и выше

* Белки не присутствовали в массиве SCRAPPY, но использовались в последующих экспериментах.

3.1.2.3 Штаммы дрожжей для изучения противогрибковой активности новых и традиционных полиеновых препаратов

Штаммы *S. cerevisiae* BY4742 (*MAT α his3 Δ 1 leu2 Δ 0 lys2 Δ 0 ura3 Δ 0*) и его мутанты, содержащие делеции генов из заключительных стадий биосинтеза эргостерола (*ERG6*, *ERG2*, *ERG3*, *ERG5* и *ERG4*) из систематической коллекции делеционных штаммов дрожжей (EUROSCARF) (<http://www.euroscarf.de/>) были использованы для определения чувствительности мутантов эргостеролового пути к полиенам и их

производным. Делетированный ген был заменен на ген устойчивость к генетицину (G418), аналогу канамицина, ингибирующего трансляцию дрожжей и других эукариот. Кроме того, мутантные штаммы, содержащие делецию генов (*PDR5* и *HXT3*), были использованы для изучения возможной роли этих генов в чувствительности клеток к микозидину. как показано в таблице 4.

Таблица 4- Штаммы делеции дрожжей, использованные в данном исследовании для изучения противогрибковой активности новых и традиционных полиеновых антимикотиков.

Штаммы	Ген	Генотип
<i>erg2</i> Δ	<i>YMR202</i>	<i>MATa his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0 erg2 Δ: kanMX4</i>
<i>erg3</i> Δ	<i>YLR056W</i>	<i>MATa his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0 erg3 Δ: kanMX4</i>
<i>erg4</i> Δ	<i>YGL012</i>	<i>MATa his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0 erg4 Δ: kanMX4</i>
<i>erg5</i> Δ	<i>YMR015</i>	<i>MATa his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0 erg5 Δ: kanMX4</i>
<i>erg6</i> Δ	<i>YML008</i>	<i>MATa his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0 erg6 Δ: kanMX4</i>
<i>pdr5</i> Δ	<i>YOR153</i>	<i>MATa his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0 pdr5 Δ: kanMX4</i>
<i>hxt3</i> Δ	<i>YDR345C</i>	<i>MATa his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0 hxt3 Δ: kanMX4</i>

3.2 Методы исследования

3.2.1 Приготовление питательных сред для культивации дрожжей

Штаммы дрожжей культивировали при 30°C в среде YPD (1% дрожжевого экстракта, 2% пептона, 2% глюкозы). Для приготовления этой среды смесь из 10 г дрожжевого экстракта, 20 г пептона и 20 г декстрозы соединяли в колбе Эрленмейера. Для приготовления твердых сред агар добавляли до конечной концентрации 2% (20 г/л). Затем в смесь медленно добавляли 1 л дистиллированной воды до полного растворения всех компонентов. Верхняя часть колбы была обернута двумя слоями алюминиевой фольги и помещена в автоклавный лоток. В лоток было добавлено достаточное количество воды, чтобы покрыть дно на 0,25–0,5 дюйма, и вся установка была автоклавирована с использованием жидкостного цикла. В автоклаве питательные среды подвергали воздействию насыщенного пара под высоким

давлением при температуре 121°C в течение заданного периода (от 15 до 20 минут). Все штаммы хранились в виде замороженных стоков, содержащих 15% глицерина, при температуре -80°C. Перед каждой экспериментальной сессией клетки культивировали на YPD-планшетах, полученных из этих стоков.

3.2.2 Анализ утойчивости/чувствительности к исследуемым веществам

3.2.2.1 Анализ чувствительности методом микроразведений для определения минимальной ингибирующей концентрации

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) испытуемых соединений определяли методом микроразведений в соответствии с рекомендациями CLSI [157]. Исходный штамм *S. cerevisiae* BY4741 подвергали тестированию на чувствительность *in vitro* к различным концентрациям 5-FC (от 2,3 до 2400 мкг/мл), флуконазола (от 0,5 до 500 мкг/мл), вориконазола (от 0,01 до 10 мкг/мл), MP (от 0,5 до 500 мкг/мл), 11326083 (от 2,3 до 2400 мкг/мл), микозидина (от 0,5 до 500 мкг/мл), 3В-Мус (от 0,5 до 500 мкг/мл), туникамицин (от 0,2 до 100 мкг/мл), SDS (от 0,01 до 100 мкг/мл), SOV4 (от 1,9 до 2000 мкг/мл), SOV8 (от 2,6 до 2680 мкг/мл) и Ala-54 (от 2,1 до 2200 мкг/мл). За исключением первых лунок, 100 мкл жидкой среды YPD переносили в лунки 96-луночного планшета с плоским дном (Greiner, Sigma- Aldrich, Германия). Затем в первую вертикальную колонку лунок планшета, содержащую наибольшую концентрацию препарата, вносили 200 мкл среды YPD, содержавшей исследуемое соединение. Двукратные серийные разведения производили путем переноса 100 мкл аликвоты из лунки с наибольшей концентрацией в следующую лунку. Наконец, в каждую лунку планшета добавляли 10 мкл суспензии инокулята *S. cerevisiae* (конечная OD = 0,05). Планшеты инкубировали в течение 24-48 ч при 30°C. После соответствующего времени инкубации визуально наблюдали наличие (или отсутствие) роста. МИК определяли как наименьшую концентрацию препарата, которая приводила к заметному ингибированию роста дрожжей. Эксперименты проводились в трех повторностях. Результаты документировались с помощью сканирования планшетов на сканере Epson Perfection V550 Photo.

Для сравнения восприимчивости мутантов по пути биосинтеза эргостерола к различным полиенам использовались те же процедуры определения МИК. Культуры дрожжей, находящиеся в экспоненциальной фазе роста подвергались действию различных полиенов. Этот тест проводили с использованием концентраций от 0,02 до 25 мкг/мл (производные амфотерицина и нистатина) и от 0,09 до 100 мкг/мл (производные натамицина).

3.2.2.2 Полуколичественная оценка эффективности клеточной гибели и роста в стрессовых условиях

Штамм *S. cerevisiae* BY4742 (*MATa his3Δ1 leu2Δ0 lys2Δ0 ura3Δ0*), а также его производные делеционные штаммы, лишенные генов *PDR5* и *HXT3* (взяты из систематической коллекции делеционных мутантов (EUROSCARF) (<http://www.euroscarf.de/>), культивировали в жидкой среде YPD до достижения логарифмической фазы ($OD_{600} = 0,2-0,7$). Далее эти штаммы помещали на твердую среду YPD с различными концентрациями микозидина (0,5х, 1х и 2х МИК) при начальной $OD_{600} = 1$ с 10-кратными последовательными разведениями для анализа роста. Фотографии были сделаны после 72-часовой инкубации при 30°C.

Для натамицина и его производных Штамм *S. cerevisiae* BY4742 инкубировали в дистиллированной воде или среде YPD (для сравнения эффекта на делящиеся и неделящиеся клетки) с добавлением указанных веществ в различных концентрациях (от 1х МИК до 8х МИК) в течение различных периодов времени (0,5, 4 и 24 часов), исходное $OD_{600} = 0,05$. Следовали тем же процедурам для полуколичественного анализа гибели клеток с использованием штамма *S. cerevisiae* дикого типа BY4742.

3.2.3 Проточно-цитометрический анализ изменений уровня GFP-меченых белков (метод SCRAPPY)

3.2.3.1 Подготовка дрожжевых клеток

Проточную цитометрию использовали для анализа изменений уровня ограниченного набора из 64 белков, меченных GFP, причем для анализа изменений уровня каждого белка использовали один и тот же штамм дрожжей. Производные штамма BY4741, несущие С-концевые GFP-метки на интересующих белках, использовались для выявления изменений уровня белков в ответ на обработку лекарственными препаратами. Гены, кодирующие эти белки, были модифицированы в геноме на 3'-конце, что соответствует С-концу белка, т.е. регуляторные области генов были идентичны таковыми у белков дикого типа. Клетки, несущие GFP-метки, помещали на твердую среду YPD (2% агар) (w/v), выращивали в течение ночи для формирования небольших колоний, а затем инокулировали в среду YPD, содержащую исследуемый препарат в концентрации МИК или 0,5хМИК, или ДМСО в эквивалентном количестве. Далее клетки инкубировали в течение 6 ч до проведения проточной цитометрии. За час до окончания инкубации к инкубируемым клеткам добавляли йодид пропидия в концентрации 1 мкг/мл для детекции клеток с нарушенной целостностью мембраны. После этого контрольный образец и образец, обработанный препаратом, анализировали на проточном цитометре Cytotflex S (Beckman Coulter), оснащенном 96-луночным пробоотборником. Флуоресценция GFP оценивалась с помощью лазера 488 нм и фильтра 525/40 FITC, а окрашивание йодистым пропидием - с помощью лазера 532 нм и фильтра 585/42 PE. Анализ планшета занимал около 1 часа, в связи с чем обработка образцов была смещена по времени.

3.2.3.2 Анализ данных цитометрии

Первичный анализ исходных данных проводился с помощью программного обеспечения CytExpert (Beckman Coulter), которое также использовалось для визуализации распределений флуоресценции клеток. Для

дальнейшего анализа и создания тепловых карт были использованы пользовательские скрипты Python, разработанные Федором Рябовым (<https://github.com/fedorrik/scrapper>). Сравнение уровней белка между обработанными и контрольными клетками проводили с использованием двух метрик: кратного изменения флуоресценции и вычисления z-критерия

Для обоих вариантов сначала удаляли данные, полученные от клеток окрашенных йодидом пропидия (все данные с PE-A > 5000). Уровень флуоресценции белка рассчитывали путем вычисления разности между уровнем флуоресценции клеток штамма с меченым белком, деленного на размер клетки (FITC-A/FSC-A) и уровня автофлуоресценции (FITC-A/FSC-A штамма дикого типа без экспрессированного GFP). Соотношение между величинами полученными при обработке веществом и в необработанном штамме давало значение кратного изменения флуоресценции белка (fold-change).

$$Foldchange = \frac{Med(FITC_{GFP}/FSC)_{\text{Эксперимент}} - Med(FITC_{Autoflu}/FSC)_{\text{Эксперимент}}}{Med(FITC_{GFP}/FSC)_{\text{Контроль}} - Med(FITC_{Autoflu}/FSC)_{\text{Контроль}}}$$

Z-критерий рассчитывались следующим образом:

$$Z = \frac{X_{\text{Эксперимент}} - X_{\text{Эксперимент}}}{\sqrt{\sigma^2_{\text{Эксперимент}} + \sigma^2_{\text{Контроль}}}}$$

Где

- $X_{\text{Эксперимент}} = Med(FITC_{GFP} / FSC)_{\text{Эксперимент}} - Med(FITC_{Autoflu} / FSC)_{\text{Эксперимент}}$
- $X_{\text{Контроль}} = Med(FITC_{GFP} / FSC)_{\text{Контроль}} - Med(FITC_{Autoflu} / FSC)_{\text{Контроль}}$
- $\sigma_{\text{эксперимент}}$ — это стандартное отклонение экспериментальной выборки, деленное на квадратный корень из числа точек данных
- $\sigma_{\text{Контроль}}$ — это стандартное отклонение контрольной выборки, деленное на квадратный корень из числа точек данных

3.2.4 Создание репортера на основе промотора Kar2

Интегративный вектор pAM978, содержащий ген, кодирующий флуоресцентный белок mCherry под контролем промотора KAR2 состоял из следующих фрагментов ДНК: 2237.н. PvuI-EcoRV pAM784 [158], 115.н. PvuII-BamHI pGAPZalpha (<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/V20520>) , 504.н. BamHI-NcoI (конец NcoI был достроен) ПЦР-продукта, полученного с праймерами ScPKAR2U и ScPKAR2L и ДНК *S. cerevisiae* в качестве матрицы, 782.н. ПЦР-продукта, полученного с праймерами ymCherryU и ymCherryL и pAG426-GAL-ccdb-ymCherry (подарок от Сьюзан Линдквист (плазмида Addgene # 14155; <http://n2t.net/addgene:14155>; RRID:Addgene_14155)) и 1633.н. SmaI-PvuI фрагмента из вектора pUC18 *E. coli*. Все фрагменты были лигированы, и амплифицирована в штамме *E. coli* DH5alpha. После проверки корректности сборки, эта плазмида была интегрирована в геном штамма дрожжей BY4741. Для направления интеграции в локус *KAR2* плазмиду расщепляли с помощью эндонуклеазы XhoI, сайт которого уникален в плазмиде и расположен внутри промотора *KAR2*. Последовательность праймеров (начало 5'-конец): ScPKAR2L1 ttCCATGGTATGTTTGATACGCTTTTTTTC; ScPKAR2U1 aaggatcccatgaactcagca; YmCherryU1 ggggtaattaacagtaaaggagaagaagaacatggcaatc; YmCherryL1 GCAGCCCATCACCACTTTG.

3.2.5 Детекция локализации GFP-меченых митохондриальных белков с помощью флуоресцентной микроскопии

Методом флуоресцентной микроскопии исследовали субклеточную локализацию митохондриальных белков Ald4-GFP и Idp1-GFP после воздействия микозидина в течение 6 часов в жидкой среде YPD

Иммобилизация клеток для микроскопии проводилась с помощью агаровой подложки, как описано в [159]. Расплавленную твердую среду (2% агар в дистиллированной воде) заливали между двумя предметными стеклами разделенными спейсером, используя для нанесения пипетку Пастера. После

застывания агара, верхнее стекло осторожно снимали. Суспензии дрожжевых клеток были нанесены агаровую подушечку и высыхали в течение 1–3 минут. Далее клетки накрывали покровным стеклом. Микрофотографии дрожжевых клеток были получены с помощью флуоресцентного микроскопа Axioscop 40 (Zeiss, Оберкохен, Германия) со 100-кратным объективом NA 1.2 с масляной иммерсией. Флуоресценция GFP возбуждалась на длинах волн 425–465 нм, а излучение регистрировалось на длине волны 485–533 нм.

3.2.6 Определение растворимости с помощью УФ-спектрометрии

Для УФ-спектрометрии исходный раствор 4 мг/мл для каждого испытуемого полиенового соединения готовили в чистом метаноле, после чего этот раствор разбавляли водой в 20 раз с получением растворов 0,2 мг/мл в 5% метаноле. Эти растворы и их последовательные разведения (0,2, 0,1, 0,05, 0,025, 0,0125 мг/мл) использовали для построения градуировочной кривой, которая затем использовалась для определения концентрации соединения в насыщенном растворе. Эти концентрации получали инкубацией 10 мг каждого образца соединения со 100 мкл деионизированной воды в течение 10 мин при встряхивании, после чего суспензию центрифугировали в течение 1 мин при $16\,000\times g$, а затем надосадочную жидкость собирали и центрифугировали с той же скоростью в течение 20 мин. Полученная надосадочная жидкость была использована для определения спектра поглощения в УФ-диапазоне с помощью нанофотометра (Implen, NP80). Для калибровки спектрофотометра использовали объем 5 мкл 5% раствора метанола путем определения базовой линии при поглощении 0,000 единиц в спектре длин волн от 200 нм до 900 нм.

3.2.7 Остановка клеточного цикла с помощью гидроксимочевины для оценки их влияния на индуцированную натамицином гибель клеток

Эксперимент по остановке клеточного цикла в S-фазе с помощью гидроксимочевины проводили по Розброку [160]. Был приготовлен исходный раствор 2М гидроксимочевины (HU). Дрожжевые клетки (15 мл) вырастали до плотности $2\text{--}5 \times 10^6$ клеток/мл и далее гидроксимочевину добавляли до

конечной концентрации 200 мМ (разбавление 1:10 2М исходного раствора гидроксимочевина, свежеприготовленного в предварительно подогретой среде). Дрожжевые клетки инкубировали в течение 2 ч при 30°C. В конце инкубационного периода клетки собирали центрифугированием при 4000 г в течение 5–10 мин при комнатной температуре. Надосадочную жидкость удаляли, а клетки дважды промывали 15 мл свежей среды. Культуру делили на две аликвоты; первая часть использовалась в качестве контрольной; вторую порцию обрабатывали натамицином и его производным LCTA 3115 в концентрациях от 0,5х МИК до 8х МИК. После этого обработанные клетки наносили на планшеты YPD (5 мкл) в ступенчатых 5-кратных сериях разведений. Фотографии были сделаны после 72-часовой инкубации при 30°C.

3.2.8 Статистические методы исследования

Статистический анализ был проведён для анализ влияния антимикотиков на протеомные изменения в клетках *Saccharomyces cerevisiae*), наиболее подходящими статистическими методами являются:

3.2.8.1 Корреляционный статистический тест

Коэффициент корреляции Пирсона использовался для оценки силы взаимосвязи между двумя переменными, в частности, для сравнения клеточных реакций (выраженных в кратном изменении уровня белка) на различные препараты или в разных экспериментальных повторах. Анализ проводился с помощью R версии 3.2.1 и осуществлялся через онлайн-платформу <https://langtest.jp/shiny/pca/>

Коэффициент корреляции Пирсона (r) рассчитывается по следующей формуле:

$$r = \frac{\sum (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 \sum (Y_i - \bar{Y})^2}}$$

где:

- X_i и Y_i — значения переменных X и Y для каждой наблюдаемой пары

- $\bar{X}$ и $\bar{Y}$ — средние значения переменных X и Y соответственно

Хотя коэффициент корреляции Пирсона эффективен для нормально распределенных данных, он может оказаться непригодным, если данные содержат промахи или не соответствуют предположениям о нормальности. Для таких случаев в качестве альтернативы использовался непараметрический коэффициент корреляции Спирмена, менее чувствительный к провалам. Корреляционный анализ Спирмена проводился с помощью онлайн-инструмента на сайте <https://www.statskingdom.com/correlation-calculator.html>.

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s) вычисляется следующим образом:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

где:

- d_i — разность между рангами каждого наблюдения для двух переменных
- n — общее количество наблюдений

Эти коэффициенты используются для измерения силы и направления связи между двумя переменными: коэффициент Пирсона — для линейной зависимости между числовыми данными, а коэффициент Спирмена — для ранговой корреляции, подходящей для данных, не имеющих нормального распределения.

3.2.8.2 Критерий t-Стьюдента (t-test):

Данные интенсивности флуоресценции были статистически проанализированы с использованием парного t-теста с односторонним критерием для определения значимости различий между двумя группами обработки (контрольной и обработанной либо в концентрации 0,5х МИК, либо 1х МИК). Парный t-тест был выбран из-за зависимого характера выборок, поскольку каждая концентрация была протестирована на одних и тех же культурах дрожжей. В качестве параметра для t-теста использовалась величина $X_{\text{Эксперимент}} = \text{Med}(\text{FITC}_{\text{GFP}} / \text{FSC}) - \text{Med}(\text{FITC}_{\text{Autoflu}} / \text{FSC})$ где Med

обозначает медианное значение. Уровень значимости $p < 0,05$ считался статистически значимым. Все анализы были выполнены в Microsoft® Excel® для Microsoft 365 MSO (версия 2410, сборка 16.0.18129.20100) 64-бит.

Для проведения парного t-теста используется следующее уравнение для вычисления t-статистики:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d / \sqrt{n}}$$

Где:

- $\bar{d}$ — среднее значение разностей между парами
- s_d — стандартное отклонение разностей между парами
- n — количество пар в выборке

3.2.8.3 Непараметрический тест Фридмана и тест Данна-Бонферрони для анализа флуоресцентной интенсивности

Статистический анализ интенсивности флуоресценции белков pro Karg-mCherry и Karg-GFP, подвергнутых воздействию туникамицина в концентрации 1 мг/мл в течение времени (0,5 ч, 1,5 ч, 2 ч и 5 ч), был выполнен с использованием теста Фридмана, являющегося непараметрической альтернативой однофакторному дисперсионному анализу (ANOVA) для повторных измерений. Тест Фридмана был выбран, поскольку данные не соответствовали требованиям нормальности и однородности дисперсий, необходимым для применения однофакторного ANOVA. Тест Фридмана ранжирует значения интенсивности флуоресценции для каждого белка в разные моменты времени и оценивает, различаются ли медианные ранги значимо. Статистика теста χ^2_F рассчитывается по формуле:

$$\chi^2_F = \frac{12}{n \cdot k(k+1)} \sum_{j=1}^k R_j^2 - 3n(k+1)$$

Где n — количество независимых наблюдений, k — количество временных точек, а R_j — сумма рангов для временной точки j .

После теста Фридмана были проведены парные сравнения с использованием теста Данна-Бонферрони для выявления конкретных временных точек, которые продемонстрировали значительные различия в флуоресцентной интенсивности, тем самым контролируя ошибку первого рода при множественных сравнениях. Коррекция Данна-Бонферрони изменяет p -значения на основе количества проведенных сравнений и рассчитывается по формуле:

$$P_{adjusted} = P_{original} * m$$

где m — общее количество сравнений.

Все статистические анализы проводились с использованием онлайн-программы Statistly (<https://statistly.app/>), при этом статистическая значимость определялась при пороге $p < 0,05$.

3.2.8.4 Анализ главных компонент (PCA – Principal Component Analysis)

Для визуализации и анализа сложных протеомных данных, связанных с влиянием различных препаратов на экспрессию флуоресценции белков, выраженную как кратное изменение уровня белка, был применен трехмерный (3D) анализ главных компонент (PCA). Этот подход позволяет уменьшить размерность данных, сохраняя при этом большую часть дисперсии набора данных, что облегчает изучение высокоразмерных протеомных данных в трехмерном пространстве. С помощью PCA исходные данные о флуоресцентной экспрессии были преобразованы в три главных компонента: PC1, PC2 и PC3, которые представляют собой главные оси дисперсии. Эти компоненты в совокупности отражают наиболее значимые закономерности в изменении экспрессии белков при различных видах лечения. PCA проводили с помощью онлайн-программы, доступной на сайте <https://www.statskingdom.com/pca-calculator.html>. Исходные данные

состояли из нормализованных значений интенсивности флуоресценции для каждого белка при обработке всеми препаратами. Полученный трехмерный график PCA использовался для визуализации кластеров и тенденций в протеомном ответе на различные виды лечения, что позволяет понять взаимосвязь и отличительные эффекты каждого препарата на исследуемые белки. Для выполнения анализа главных компонент (PCA) в трех измерениях были использованы следующие шаги и уравнения.

Шаг 1: Стандартизация данных путем вычитания средних значений переменных:

$$z_{ij} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{\sigma_j}$$

Где z_{ij} — стандартизированное значение, x_{ij} — исходное значение, $\bar{x}_j$ — среднее значение признака j , а σ_j — стандартное отклонение признака j .

Шаг 2: Вычисление ковариационной матрицы чтобы оценить взаимное изменение признаков:

$$Cov(X) = \frac{1}{n-1} Z^T Z$$

Где Z — матрица стандартизированных данных, Z^T — ее транспонированная матрица, а n — число наблюдений.

Шаг 3: Нахождение собственных значений и собственных векторов чтобы определить направления (главные компоненты), вдоль которых данные изменяются наиболее сильно.

$$Cov(X)v = \lambda v$$

где v — собственный вектор, а λ — соответствующее собственное значение.

Шаг 4: Сортировка собственных значений и выбор трёх главных компонентов, объясняющих наибольшую дисперсию.

Шаг 5: Проекция данных на трёхмерное подпространство осуществляется путём преобразования исходных стандартизированных данных Z в новое пространство, определяемое тремя главными компонентами,

с использованием матрицы W , составленной из трёх выбранных собственных векторов.

$$XPCA = ZW$$

Где **$XPCA$** — данные, преобразованные в трёхмерное пространство главных компонент.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ
ГЛАВА III. РАЗРАБОТКА МЕТОДА SCRAPPY
(ОДНОКЛЕТОЧНЫЙ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ
ПРОТЕОМА У ДРОЖЖЕЙ) ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕАКЦИИ
ОТДЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ГРИБОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЕЩЕСТВ С
АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Ясное понимание механизма действия антимикотиков является основой для разработки эффективных терапий против заболеваний, вызванных грибами, и преодоления вызовов, с которыми сталкиваются в клинической практике.

Основная цель заключалась в разработке и применении подходов для изучения ответа индивидуальных клеток штаммов дрожжей *S. cerevisiae* на действие известных и новых веществ с антигрибковой активностью с целью характеристики механизма их действия и выявления белков, по изменению уровня которых популяция клеток в культуре демонстрирует гетерогенность в ответ на действие антимикотиков.

Этот отбор был основан в первую очередь на статье, опубликованной группой Пикотти [18], в которой белки для изучения были выбраны с помощью масс-спектрометрии (МС) на основе двух критериев: 1) белок обнаружен в предыдущих данных МС, 2) в литературе имеются данные, что обилие данного белка связано с конкретным клеточным процессом. Выбранная панель была меньше, чем у группы Пикотти, поскольку МС может зондировать как изменения в численности, так и посттрансляционные модификации, кроме того были связаны ограничения чувствительности метода из-за неспособности проточного цитометра надежно измерять низкие уровни GFP из-за наличия клеточной автофлуоресценции.

Изначально выбрали 150 белков, помеченных GFP, из библиотеки дрожжей с GFP. Однако исключили белки, которые были сложно наблюдать на фоне из-за низкого уровня флуоресценции. Белки, которые рассмотрели, играют роль в различных клеточных процессах, включая биосинтез и

катаболизм аминокислот, репарацию ДНК, углеводный обмен, биосинтез липидов, реакцию на окислительный стресс и активацию путей, связанных с термотолерантностью и покоем. Включили в анализ дополнительные белки, которые не входили в панели Пикотти, но имеют большое значение для ответа на антифунгальные препараты. В качестве примера можно привести Pdr5-GFP, белок, взаимодействующий с белками, участвующими в трансмембранном транспорте лекарственных веществ, Bmh1-GFP (белок 14-3-3) и Htb2-GFP (гистон, полезный для мониторинга нарушений клеточного цикла), как показано далее в главе 4.

Препараты, выбранные для тестирования, включали соединения с известными механизмами действия, такие как флуконазол и вориконазол, которые относятся к классу азольных антимикотиков, а также флуцитозин и 2-меркаптопиридин-N-оксид (MP). Кроме того, был включен туникамицин, известный индуктор неправильного сворачивания белков эндоплазматического ретикулума. Также были протестированы вещества с неизвестными механизмами действия, включая N4-алкиловые цитидины (Ala-54, SOV4 и SOV8), топический антимикотик Микозидин и его бензоильные производные (3-Мус). SDS был использован в тесте, потому что его часто используют в качестве стрессора мембраны/клеточной стенки, а также потому, что, как было показано в нашей лаборатории, он влияет на прохождение клеточного цикла [161].

3.3 Оптимизация условий инкубации лекарств с дрожжевыми штаммами в подходе SCRAPPY

Для исследуемых соединений определены минимальные значения ингибирующей концентрации по отношению к дикому штамму *S. cerevisiae* BY4741. Значения МИК представляют собой самую низкую концентрацию каждого противогрибкового средства, которая полностью ингибирует видимый рост грибка через 24–48 ч. Полученные результаты сведены в таблице 5 ниже.

Таблица 5 - Результаты значений МИК (мкг/мл) исследуемых соединений с антимикробной активностью.

Наименование препарата	МИК (мкг/мл)
5-фторцитозин (5FC)	50
Флуконазол (Flu)	15.6
Вориконазол (Vor)	0.04
2 меркаптопиридин-N-оксид (MP)	4.3
11326083	15.4
Микозидин	15.6
3-бензоильное производное микозидина (3В-Мус)	15.6
L-173	31
Туникамицин	2
Додецилсульфат натрия (SDS)	0.1
3'-амино-N4-додецил-5-метил-2',3'-дидезоксицитидин (SOV4)	20
3'-диметиламино-N4-децил-5метил-2',3'дидезоксицитидин (SOV8)	28
N4-додецил-2'-дезоксицитидин (Ala-54)	>300

После определения МИК каждого препарата относительно штамма BY4741, который является родителем GFP-меченой коллекции штаммов, использованной в этом исследовании, предположили, что МИК или половины МИК (МИК/2), при которой клетки все еще могут пролиферировать, будет достаточно для индуцирования клеточного ответа. Таким образом, каждый препарат был протестирован в двух концентрациях (МИК и МИК /2), и каждый тест повторялся не менее трех раз. Тесты с двумя соединениями показали, что шесть часов воздействия на клетки исследуемых веществ – это оптимальное время для появления четкого ответа на это воздействие (рисунок 4).

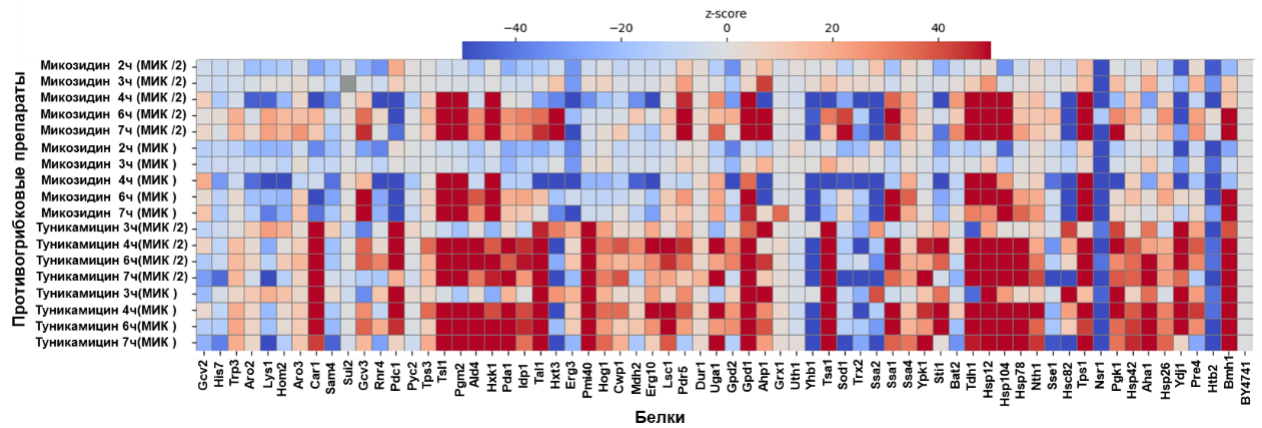


Рисунок 4 - Оптимизация времени инкубации клеток при обработке микозидином и туникамицином. Клетки панели SCRAPPY инкубировали с соединениями при указанной концентрации и в течении указанного времени (ч), а затем анализировали с помощью проточного цитометра, в соответствии со стандартным протоколом, описанным в разделе «Материалы и методы».

Представленные данные были рассчитаны только для живых клеток, так как в мертвых клетках наблюдается утечка многочисленных внутриклеточных белков (рисунок 5). Отделить живые клетки от мертвых позволило окрашивание их йодидом пропидия, который проникает только в клетки с поврежденной мембраной.

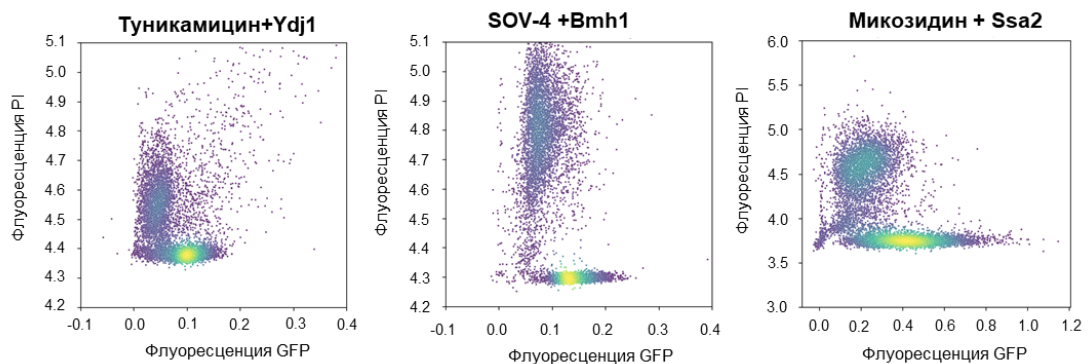


Рисунок 5– Цитометрический анализ, демонстрирующий утечку белка из мертвых клеток.

Для оценки воспроизводимости эксперимента был рассчитан коэффициент корреляции Спирмена для сравнения серий изменений уровней белков под действием препаратов в разных повторностях эксперимента (таблица 6). Данные по трем повторностям эксперимента были доступны для 13 препаратов, и с учетом двух концентраций для каждого препарата было

выполнено по 6 сравнений. Для визуализации результатов для каждого препарата было рассчитано среднее значение коэффициента корреляции Пирсона. Почти все исследуемые вещества продемонстрировали высокую воспроизводимость эксперимента, так как средние значения коэффициента корреляции превышали 0,7.

Таблица 6 - значения коэффициента корреляции Спирмена между клеточными ответами разных повторностей.

	Коэффициент корреляции Спирмена (r_s) при 0,5х МИК			Коэффициент корреляции Спирмена (r_s) при 1х МИК			Среднее значение
	П1/ П2 (МИК/2)	П1/ П3 (МИК/2)	П2/ П3 (МИК/2)	П1/П 2 (МИК)	П1/П3 (МИК)	П2/П3 (МИК)	
Микозидин	0,996	0,978	0,96	0,992	0,948	0,964	0,973
11326083	0,962	0,963	0,958	0,971	0,989	0,967	0,968
MP	0,994	0,951	0,936	0,998	0,962	0,956	0,966
Туникамицин	0,999	0,997	0,998	0,997	0,997	0,999	0,998
ЗВ-Мус	0,973	0,973	0,999	0,855	0,874	0,996	0,945
Флуконазол	0,999	0,995	0,996	0,996	0,984	0,994	0,994
Флуконазол	0,982	0,993	0,99	0,987	0,985	0,979	0,986
5FC	0,728	0,976	0,644	0,788	0,684	0,979	0,800
SOV4	0,774	0,780	0,943	0,946	0,877	0,888	0,868
SOV8	0,996	0,983	0,992	0,895	0,973	0,841	0,947
SDS	0,997	0,997	0,994	0,137	0,993	0,133	0,709
Ala-54	0,748	0,954	0,912	0,796	0,960	0,934	0,884
L-173	0,998	1,000	0,999	0,997	0,999	0,999	0,999

3.4 Общие реакции на изучаемые соединения

Обзор полученных данных показал, что определенное количество белка повышалось в ответ на большинство различных изучаемых соединений (рисунок 6). Например, многочисленные белки, участвующие в реакции теплового шока (Hsp104, Hsp12 и Hsp78) и протеостазе (Ssa1 и Ssa4), а также белки, участвующие в углеводном обмене (Tsl1, Pgm2, Ald4, Hxk1, Pda1 и Idp1), индуцировались рядом различных веществ.

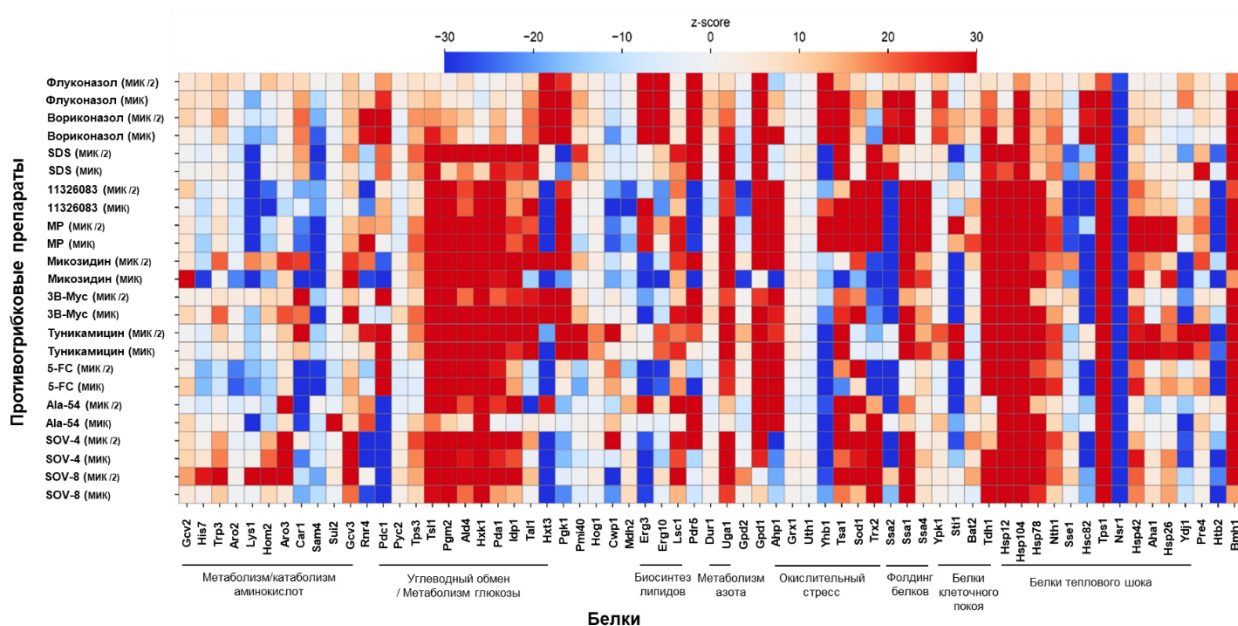


Рисунок 6 - Результаты измерения изменений уровня белков под действием исследованных веществ. Изменения в количестве белка, меченного GFP, выраженное в Z-score по шкале -30/30. Красный – увеличенные количества, синий – сниженные.

Для определения того, позволяют ли полученные профили изменения количества белков четко различать соединения разных классов и сходство между соединениями одного класса, был использован анализ главных компонент (PCA) (рисунок 7) для снижения размерности данных. Это позволяет визуализировать многомерные данные в трехмерном представлении. Было замечено, что различные концентрации одного и того же препарата обычно располагаются близко друг к другу на графике PCA, так же как и препараты одного класса. Сходства наблюдаются среди аналогов нуклеозидов (SOV-4, SOV-8), азолов (вориконазол, флуконазол), тиазолидинов (микозидин, 3В-Мус) и транспортеров молекул двухвалентных металлов.

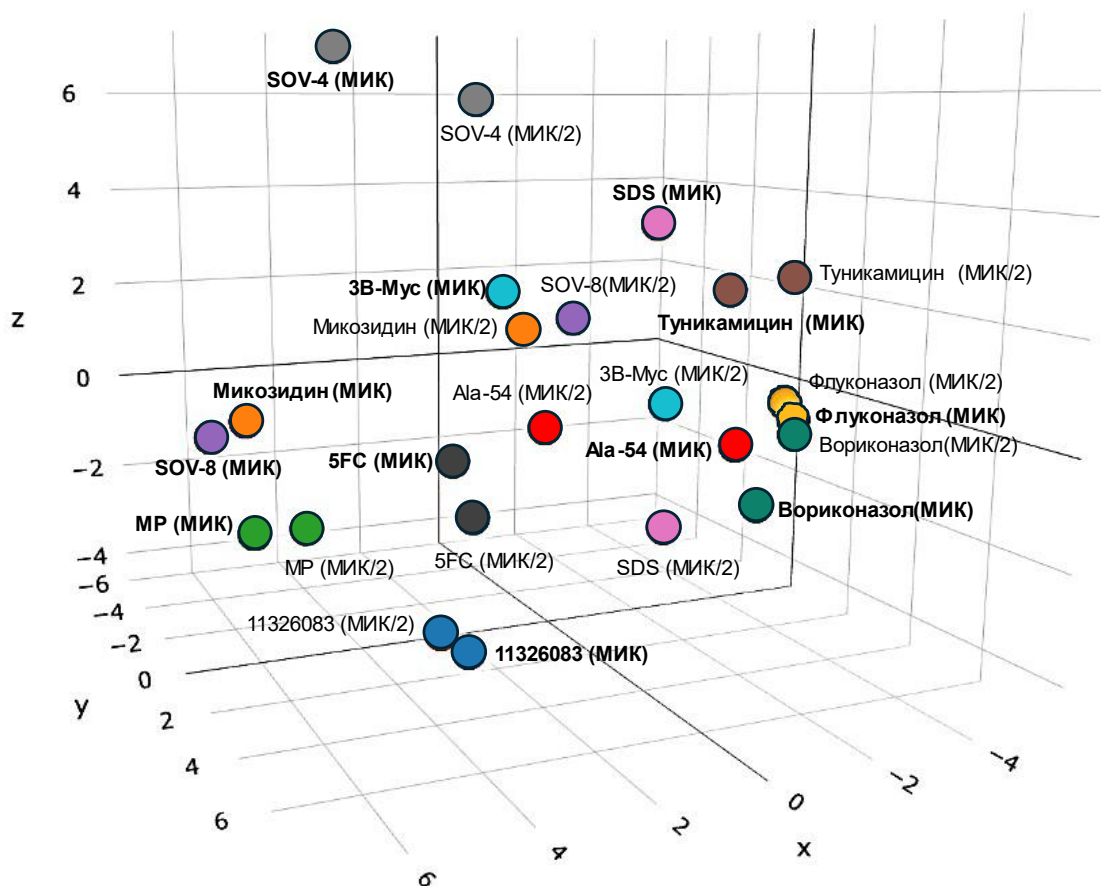


Рисунок 7 – График РСА, отражающий расстояния между усредненными кратными изменениями профилей флуоресценции белков для исследуемых соединений.

Чтобы статистически подтвердить сходства клеточных реакций между препаратами одного класса был рассчитан коэффициент корреляции Пирсона для каждого парного сравнения препаратов в концентрациях МИК во всех повторях эксперимента. Среднее значение коэффициента корреляции Пирсона составило 0,80 для азолов, 0,59 для транспортеров молекул двухвалентных металлов, 0,77 для тиазолидинов и 0,37 для нуклеозидов, как показано на рисунке 8.

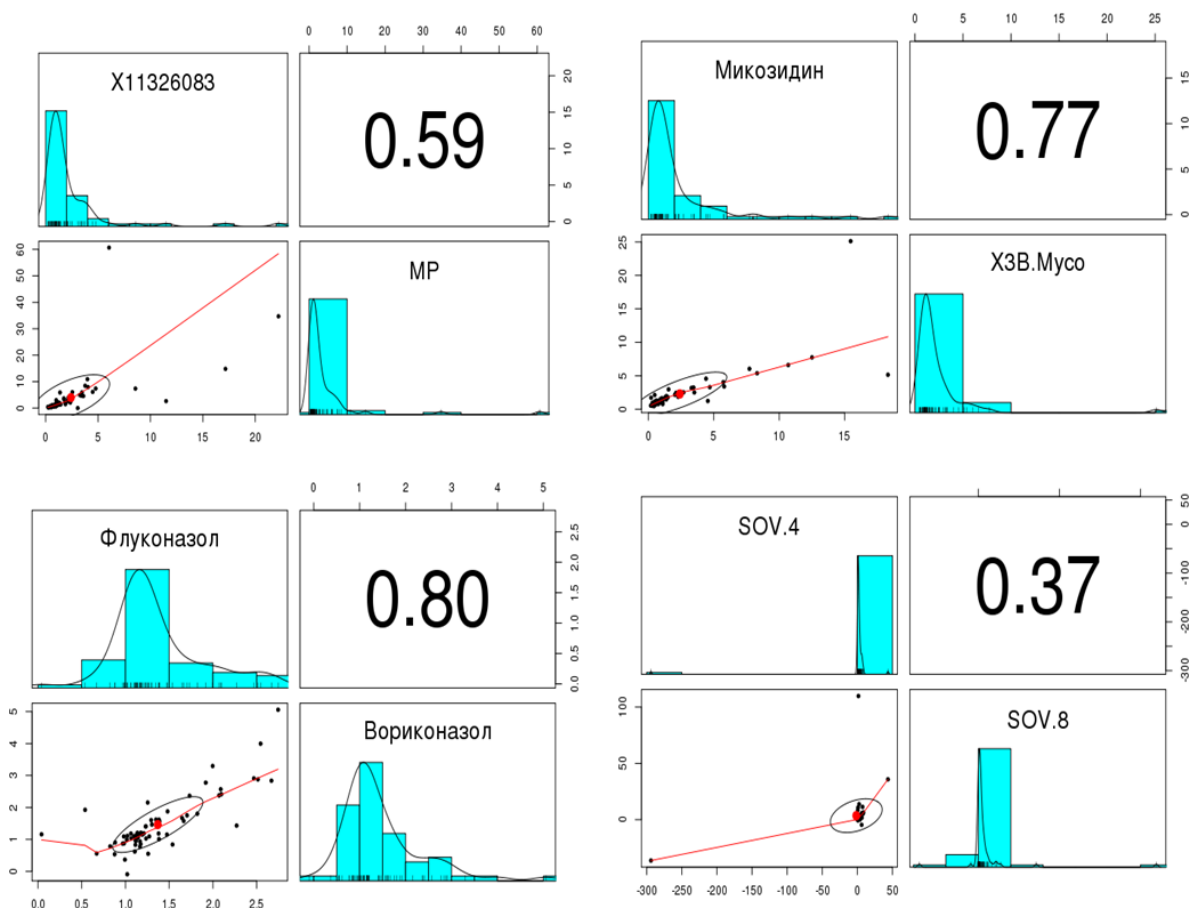


Рисунок 8 - Матрицы корреляции на диаграмме рассеяния показывают попарные сравнения клеточных ответов. Сходства наблюдаются среди аналогов нуклеозидов (SOV-4, SOV-8), азолов (вориконазол, флуконазол), тиазолидинов (микозидин, 3В-Мус) и транспортеров молекул двухвалентных металлов при концентрации 1х МИК. Коэффициенты корреляции Пирсона были рассчитаны для статистической оценки сходства клеточных ответов в экспериментальных повторах.

3.5 Специфический протеомный ответ на действие исследуемых препаратов

3.5.1 Химические вещества с известным механизмом действия

3.5.1.1 Азолы

Флуконазол и вориконазол, два соединения из класса азолов, были выбраны, поскольку они являются антифунгальными препаратами, используемыми в клинике. Целью было сравнить действие двух соединений, нацеленных на одну и ту же мишень. В отличие от других изучаемых соединений, флуконазол и вориконазол вызывали устойчивое повышение количество белков Erg3-GFP и Erg10-GFP (рисунок 6, рисунок 9А, Б), при этом

они не вызывали увеличения белков теплового шока, проестостаза и углеводного обмена, как множество других веществ. Более того, тестирование чувствительности флуконазола и вориконазола к мутантным штаммам дрожжей, содержащим делеции гена *ERG3*, вызывало резистентность к ним (рисунок 9А).

Индукция белка Pdr5, который облегчает отток лекарств из клетки, также усиливалась азолами (рисунок 6, рисунок 9А, Б). При делеции *PDR5* повышалась чувствительность дрожжей к азолам (рисунок 10А).

Низкоаффинный транспортер глюкозы Hxt3 также индуцировался азолами (рисунок 6), однако делеция *HXT3* не влияла на токсичность азолов (рисунок 10Б). Кроме того, белки окислительного стресса показали четкую реакцию при воздействии на дрожжи азолом. Например, Yhb1 и (в меньшей степени) Tsa1 (рисунок 6, рисунок 9).

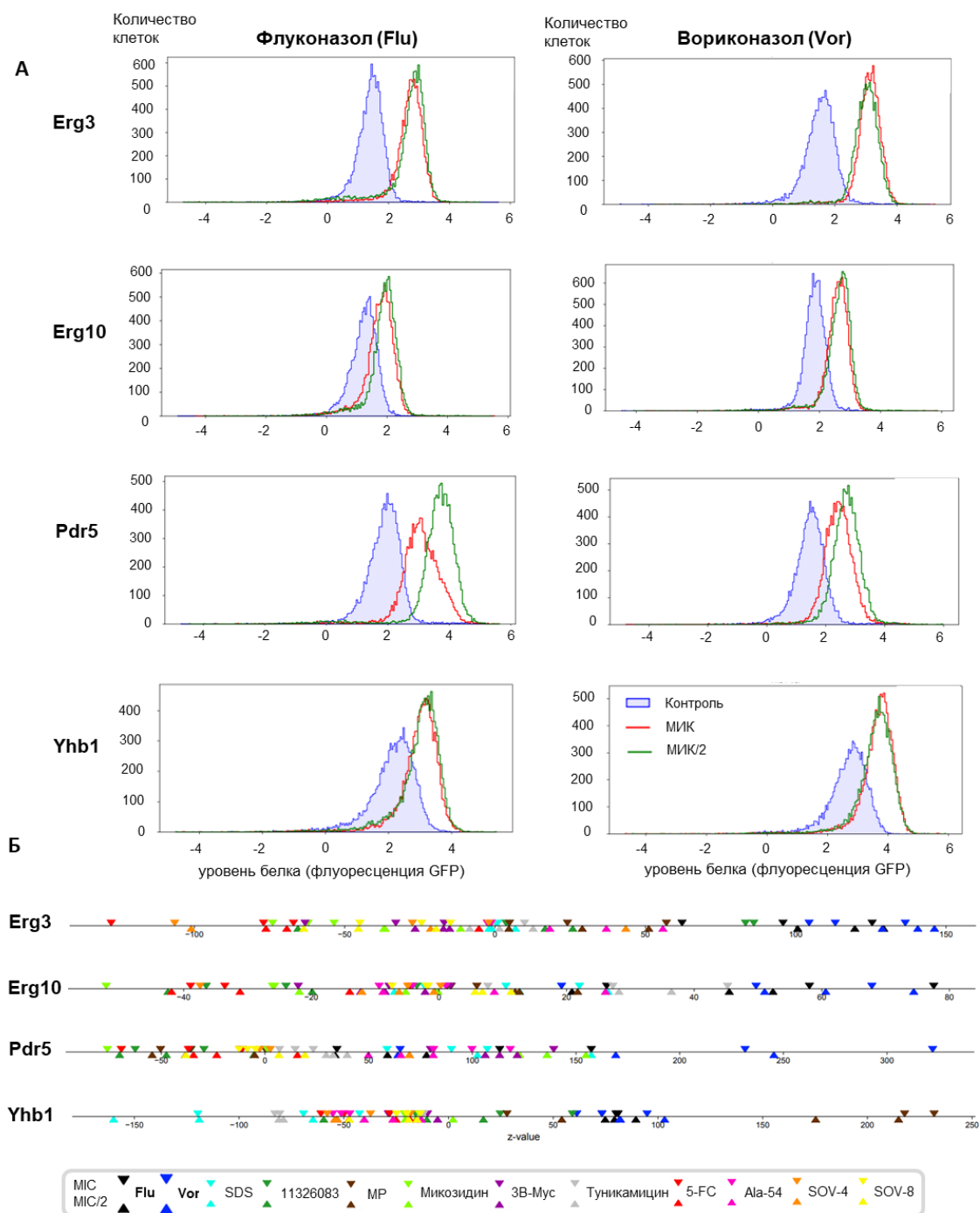


Рисунок 9 - Азолы вызывают увеличение уровня белков, задействованных в биосинтезе липидов, а также транспортера ксенобиотиков. (А) Цитометрические данные об изменениях уровня белка (Б) Сравнительный график изменения z-критерия для всех исследуемых соединений (для демонстрации веществ, вызывающих наиболее сильный эффект)

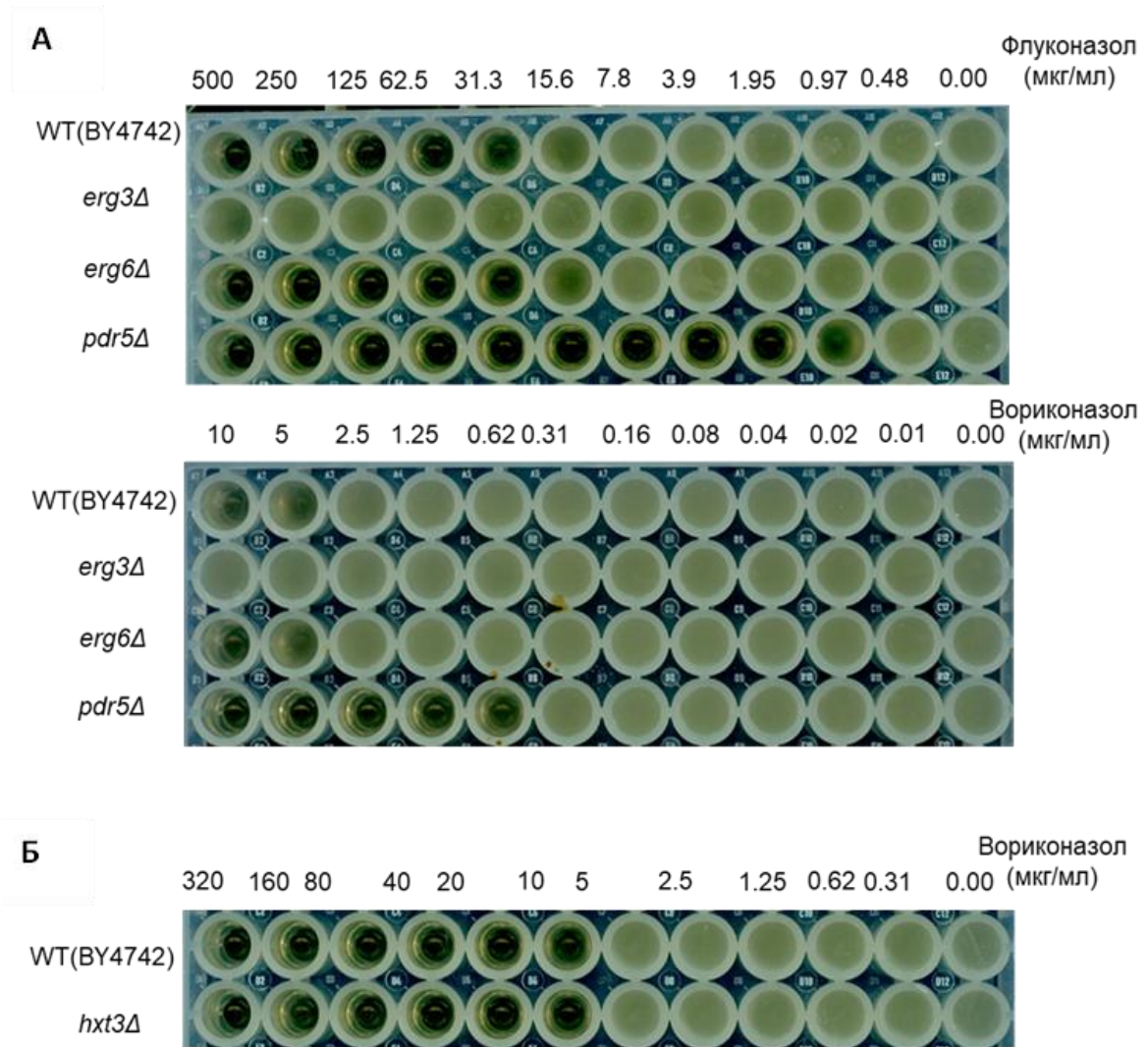


Рисунок 10 – Токсичность азолов зависит от наличия части генов, кодирующих белки, для которых было обнаружено изменение уровня. Определение МИК азолов при их воздействии на делеционные мутанты штаммов дрожжей. А) Делеция *ERG3* вызывает резистентность к азолам, делеция *PDR5* повышает чувствительность, в то время как Б) делеции *ERG6* и *HXT3* имеют незначительный эффект.

Для дальнейшего подтверждения результатов был проведен статистический анализ с использованием парного t-теста с одним хвостом. Как показано в таблице 7, флуконазол и вориконазол значительно ($p < 0,05$) увеличивал или увеличили количество упомянутых белков.

Таблица 7 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние флуконазола и вориконазола на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

	Белок	Флуконазол				Вориконазол			
		ср	со	t	P*	ср	со	t	P*
МИК/2	Pdr5	576,767	203,848	2,334	0,047	1086,567	530,038	2,559	0,049
	Erg3	655,033	53,043	7,730	0,0006	729,233	102,828	8,382	0,006
	Erg10	370,5	65,501	2,216	0,033	451,8	83,532	3,747	0,012
	Hxt3	1235,333	201,598	2,977	0,006	1425,867	396,127	2,653	0,023
	Yhb1	1036,3	208,303	3,142	0,007	1122,033	239,828	3,493	0,011
	Tsa1	1607,233	60,839	1,018	0,204	1656,833	258,568	1,336	0,079
МИК	Pdr5	737,6	308,256	2,462	0,047	1066,833	470,364	2,807	0,041
	Erg3	573,233	157,091	3,319	0,022	667,367	67,613	11,116	0,004
	Erg10	419	84,225	2,712	0,036	455,9	100,962	3,230	0,020
	Hxt3	1142,8	188,171	2,516	0,013	1314,467	380,103	2,278	0,028
	Yhb1	1030,933	202,601	3,163	0,003	1059,167	230,151	3,187	0,012
	Tsa1	1737,3	189,472	1,599	0,1305	1712,4	395,904	1,187	0,107

ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

3.5.1.2 Транспортеры молекул двухвалентных металлов

Исследовали 2-меркаптопиридин-N-оксид (MP), входящий в состав известного препарата против перхоти пиритиона цинка. Известно, что пиритион цинка индуцирует приток меди и цинка в клетки грибов [162, 163]. Кроме того, протестировали недавно синтезированное химическое соединение, называемое 11326083, которое похоже по структуре с недавно изученным соединением, направленном против микобактерий, которое вызывает приток меди в бактерии [164]. При воздействии на дрожжи этих веществ, наблюдали повышение уровней белков Ahp1, Sod1, Trx2 (рисунок 11А, Б), повышение уровня которых ассоциировано с окислительным стрессом, а также самую сильную, из полученных при воздействии этих веществ, индукцию шаперона Ssa4, что указывает на протеотоксический стресс, вероятно, из-за окисления белка. Примечательно, что оба соединения, по-видимому, вызывают снижение уровня Lys1 (рисунок 6), что является уникальным среди представленных наборов данных.

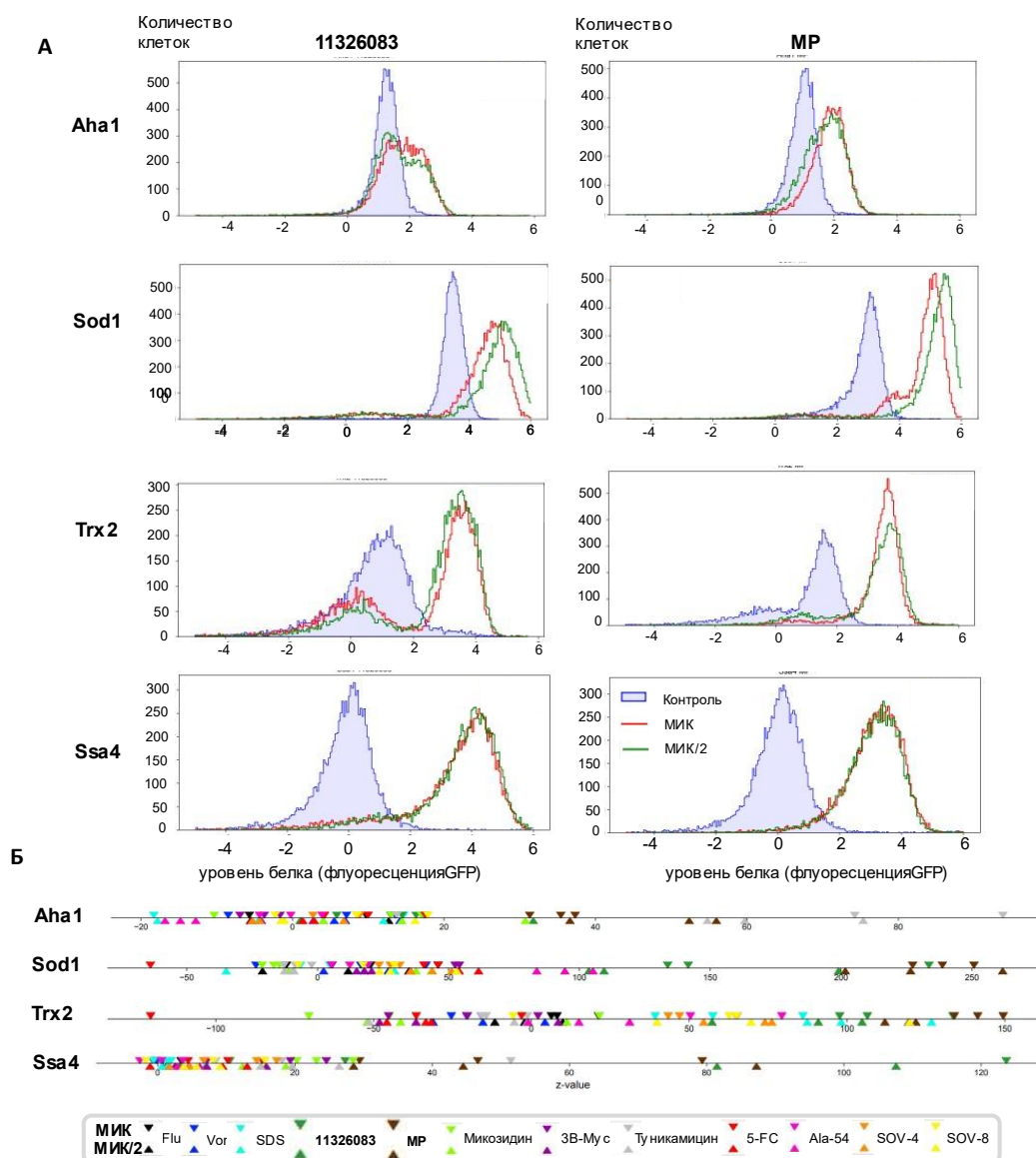


Рисунок 11 – Вещества MP и 11326083 вызывают сильный окислительный и протеотоксический стресс. (А) Цитометрические данные об изменениях уровня белка (Б) Сравнительный график изменений z-критерия для всех исследуемых соединений.

Результаты статистического анализа, проведенного с использованием однохвостового парного t-теста, продемонстрировали, что оба вещества 11326083 и MP значительно ($p < 0,05$) увеличивали количество белков Aha1, Sod1, Trx2, Ssa4 но они значительно снизили уровень Lys1 ($p < 0,05$), о чем свидетельствует отрицательное значение t-статистики. Статистические значения и соответствующие p-значения для каждого вещества приведены в таблице 8.

Таблица 8 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние веществ 11326083 и МР на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

	Белок	11326083				МР			
		ср	со	t	p*	ср	со	t	p*
МИК/2	Ahp1	7515,700	440,576	12,713	0,005	11202,300	3511,467	2,463	0,017
	Sod1	2975,833	704,124	4,837	0,017	4528,333	1296,642	4,735	0,016
	Trx2	1000,833	109,612	11,872	0,001	1621,733	401,706	5,802	0,011
	Ssa4	414,233	196,782	3,280	0,039	784,533	205,704	6,189	0,012
	Lys1	99,067	69,266	-4,290	0,019	162,000	37,004	-4,419	0,015
МИК	Ahp1	8084,267	1858,334	4,278	0,018	11569,667	3399,764	2,693	0,014
	Sod1	3054,700	197,572	14,050	0,001	4614,033	545,728	11,058	0,002
	Trx2	1274,833	531,971	3,610	0,036	1642,433	394,433	5,992	0,012
	Ssa4	365,200	82,679	6,762	0,012	732,000	175,324	6,742	0,010
	Lys1	87,800	54,022	-4,764	0,008	156,267	33,742	-4,615	0,010

ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение $p < 0,05$)

Чтобы подтвердить, что накопление в клетках меди является результатом воздействия на них веществ 11326083 и МР, эти препараты были протестированы на индукцию синтеза белков Cup1-1-GFP и Cup1-2-GFP, которые являются защитными металлотионеинами, участвующими в детоксикации меди. Эти белки показали устойчивое увеличение в присутствии препаратов 11326083 и МР (рисунок 12). Примечательно, что увеличение количества защитных ферментов намного слабее при МИК -эквивалентных концентрациях вещества 11326083, и реакция клеток на его воздействие сохраняется при гораздо более высоких концентрациях чем МИК.

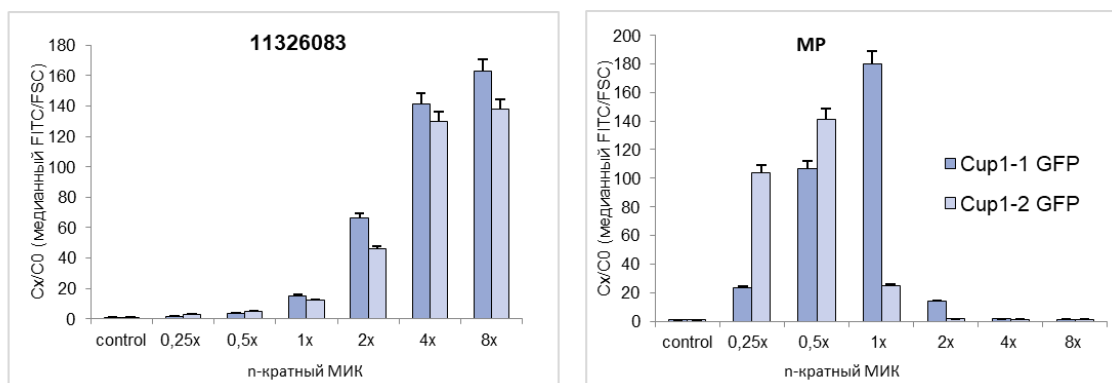


Рисунок 12 – Вещества МР и 11326083 демонстрируют специфическое увеличение ферментов Cup1-1/2-GFP, связывающих ионы меди.

3.5.1.3 Туникамицин

Известно, что туникамицин ингибирует присоединение гликозидных цепей к полипептидам в эндоплазматическом ретикулуме, вызывая их неправильное сворачивание. Как видно на рисунке 13, туникамицин вызывает увеличение количества белков Pmi40 и Pre4 в клетках дрожжей. Белок Pmi40 превращает фруктозо-6-фосфат в манноза-6-фосфат, что необходимо для его гликозилирования в секреторном пути. Белок Pre4 является субъединицей протеасомы, участвующей в деградации поврежденных белков ЭПР. Кроме того, туникамицин вызывает увеличение количеств Aha1 и Ydj1, которые являются партнерами Hsp90s и Hsp70 соответственно. Эти наблюдения подчеркивают особый тип протеотоксического окислительного повреждения, вызываемого туникамицином.

Интересно, что туникамицин также вызывает сильную индукцию Tsa1 (рисунок 6), пероксиредоксина и партнера Hsp70, который облегчает взаимодействие с окислительно поврежденными белками. Tsa1 также индуцировался, хотя и менее значительно, медь-транспортирующим соединением МР.

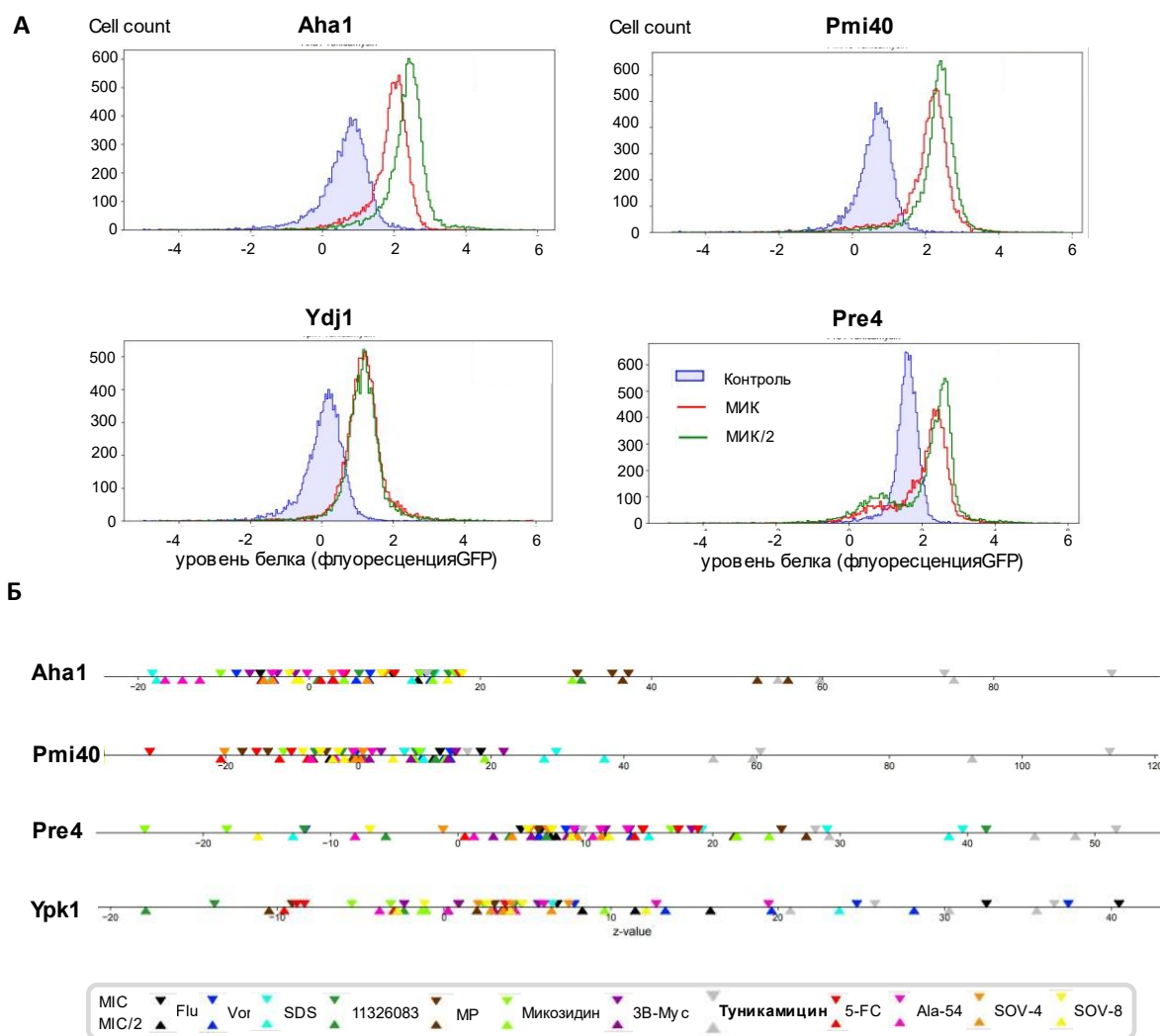


Рисунок 13 – Туникамицин индуцирует специфическое повышение уровня белков Pmi40 и Pre4. (А) Цитометрические данные об изменениях уровня белков (Б) Сравнительный график изменения z-критерия для всех исследованных соединений.

Анализ данных с применением однохвостового парного t-теста показал, Туникамицин значительно ($p < 0,05$) увеличивал количество ранее упомянутых белков. (Таблица 9)

Таблица 9 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние туникамицина на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5x МИК и 1x МИК.

Белок	МИК/2				МИК			
	ср	со	t	p*	ср	со	t	p*
Pmi40	382,133	6,649	4,307	0,027	412,667	43,086	4,431	0,027
Pre4	449,467	63,221	3,734	0,028	457,900	79,279	3,393	0,043
Ydj1	883,067	45,800	7,615	0,002	940,167	140,575	3,841	0,033
Tsa1	3644,300	161,563	2,608	0,045	4056,200	254,329	3,236	0,042
Aha1	318,700	10,928	5,840	0,011	382,033	79,486	4,339	0,041

ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение $p < 0,05$)

3.5.1.4 Сравнение применения дефектного химерного белка слитого с GFP и промоторного сенсора

Туникамицин является известным стрессором эндоплазматического ретикулума.(ЭПР). Примечательно, что Kar2, меченный GFP (или, по крайней мере, тот вариант, который был выбран для изучения механизма действия тукамицина на клетку в качестве белка-репортера шаперона Kar2 из доступной коллекции GFP-меченных белков) не локализован в ЭПР, как это должно быть в случае с нативным белком. Теоретически, это может не мешать определению его количества в клетке, т. к. количество белка все равно может свидетельствовать об изменении активности промотора гена *KAR2*. Однако сохранялась возможность того, что количество дефектного белка может неадекватно отражать активацию синтеза. Поэтому было решено сравнить поведение штамма содержащего этот белок, с другим, в котором флуоресцентный белок (mCherry) был непосредственно помещен под контроль промотора гена *KAR2* (PKAR2). Обработка клеток двух штаммов туникамицином показала, что, хотя Kar2-GFP показал некоторое увеличение сигнала, ответ PKAR2-mCherry был намного сильнее (количество белка увеличилось намного сильнее) (рисунок 14).

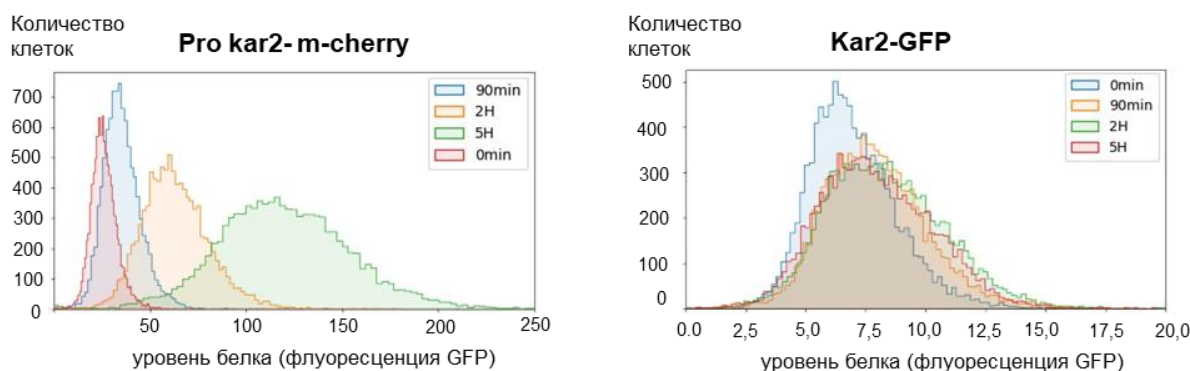


Рисунок 14 – Туникамицин индуцирует промотор гена *KAR2*, более эффективно чем продукцию белка Kar2, помеченного GFP.

Для оценки различий в интенсивности флуоресценции между временными точками использовался тест Фридмана, являющийся непараметрическим методом для анализа повторных измерений. Результаты представлены в таблице 10

Таблица 10- Результаты применения непараметрического теста Фридмана для изучения влияния туникамидина на флуоресцентную интенсивность белков PKAR2-mCherry и Kar-GFP во времени.

		n=10000				χ^2^*	df*	p*
		Среднее	Медиана	Стандартное отклонение	Средний ранг			
PKAR2-mCherry	T0ч	2385,32	2142,7	1291,91	1,86	26135,59	4	<0,001
	T0.5ч	2419,59	2228,85	1478,86	1,89			
	T1.5ч	3495,53	3249,55	1967,79	2,61			
	T2ч	7153,87	6673,3	3599,15	3,88			
	T5ч	13911,9	13172,9	6974,88	4,75			
Kar2-GFP	T0ч	13636,43	11008,3	9528,65	2,79	2532,95	4	<0,001
	T0.5ч	12066,84	9739,85	9616,77	2,47			
	T1.5ч	14602,97	12168,5	10076,98	2,98			
	T2ч	17615,77	14925,95	11926,91	3,45			
	T5ч	16398,21	14962,65	10650,55	3,31			

χ^2 : Хи-квадрат(χ^2), df: степени свободы p: p-значения, (значимо, если значение $p < 0,05$)

Для PKAR2-mCherry были выявлены значимые различия в интенсивности флуоресценции между временными точками (хи-квадрат = 26135,59, степени свободы = 4, $p < 0,001$). Средние ранги увеличивались с течением времени, что свидетельствует о зависимом от времени повышении интенсивности флуоресценции: T0ч (1,86), T0,5ч (1,89), T1,5ч (2,61), T2ч (3,88) и T5ч (4,75).

Аналогично, для PKAR2-GFP тест Фридмана также выявил значимые различия в интенсивности флуоресценции с течением времени (хи-квадрат = 2532,95, степени свободы = 4, $p < 0,001$). Средние ранги демонстрировали

тенденцию к увеличению: T0ч (2,79), T0,5ч (2,47), T1,5ч (2,98), T2ч (3,45) и T5ч (3,31).

На основании рассчитанных изменений средней интенсивности флуоресценции; PKAR2-mCherry продемонстрировал более значительное увеличение интенсивности флуоресценции по сравнению с Kar-GFP при сравнении временных точек. Например: от T0ч до T2ч интенсивность флуоресценции PKAR2-mCherry увеличилась на 4768,55, тогда как Kar-GFP увеличилась лишь на 3980,34 и от T0ч до T5ч интенсивность флуоресценции PKAR2-mCherry возросла на 11526,58, в то время как для Kar-GFP прирост составил только 2761,78.

Пост-хок анализ с использованием теста Данна-Бонферрони подтвердил значимые различия между большинством временных точек, что отражает прогрессивное увеличение интенсивности как показано в таблице 11.

Таблица 11 - Парные сравнения с использованием теста Данна-Бонферрони.

Сравнение временных точек	PKAR2-mCherry				Kar-GFP			
	t	co	p	Adj. p	t	co	p	Adj. p
T0ч - T0.5ч	-0,03	-1,47	0,142	0,709	0,32	14,41	<0,001	<0,001
T0ч - T1.5ч	-0,76	-33,78	<0,001	<0,001	-0,19	-8,68	<0,001	<0,001
T0ч - T2ч	-2,02	-90,4	<0,001	<0,001	-0,66	-29,69	<0,001	<0,001
T0ч - T5ч	-2,9	-129,52	<0,001	<0,001	-0,53	-23,51	<0,001	<0,001
T0.5ч - T1.5ч	-0,72	-32,31	<0,001	<0,001	-0,52	-23,08	<0,001	<0,001
T0.5ч - T2ч	-1,99	-88,93	<0,001	<0,001	-0,99	-44,1	<0,001	<0,001
T0.5ч - T5ч	-2,86	-128,05	<0,001	<0,001	-0,85	-37,92	<0,001	<0,001
T1.5ч - T2ч	-1,27	-56,62	<0,001	<0,001	-0,47	-21,01	<0,001	<0,001
T1.5ч - T5ч	-2,14	-95,74	<0,001	<0,001	-0,33	-14,84	<0,001	<0,001
T2ч - T5ч	-0,87	-39,12	<0,001	<0,001	0,14	6,18	<0,001	<0,001

co: стандартные отклонения, **t:**t-статистика, **p*:** p-значения, **Adj. P:** Скорректированное p-значение (значимо, если значение $p < 0,05$). В каждой строке проверяется нулевая гипотеза, если обе выборки одинаковы; "Скорректированное p-значение" получается путем умножения p-значения на количество тестов

3.5.2 Исследование профилей ответа на вещества с неизвестным механизмом действия

3.5.2.1 Алкилированные аналоги цитидина

Метод SCRAPPY применили для изучения клеточных эффектов в ответ на воздействие на них химических веществ с неизвестным механизмом действия - N4-алкил-цитидинов (Ala-54, SOV4 и SOV8). Эти вещества представляют собой класс химических соединений, используемых для защиты произведений искусства от разложения, вызванного патогенными грибами, хотя их механизм действия пока остается неизученным. [165, 166].

Для сравнения также был протестирован метод SCRAPPY на противогрибковом препарате на основе нуклеиновых кислот, который используется в клинике - 5-FC. Как показано на рисунке 15, наблюдали заметное повышение количества некоторых белков, связанных с биосинтезом аминокислот, а именно Hom2, Aro3 и несколько менее ярко выражено Trp3. Кроме того, наблюдалась повышение количества Trx2, участвующего в реакции на окислительный стресс. SOV-4 и Ala-54 также приводили к повышению количества Pdr5.

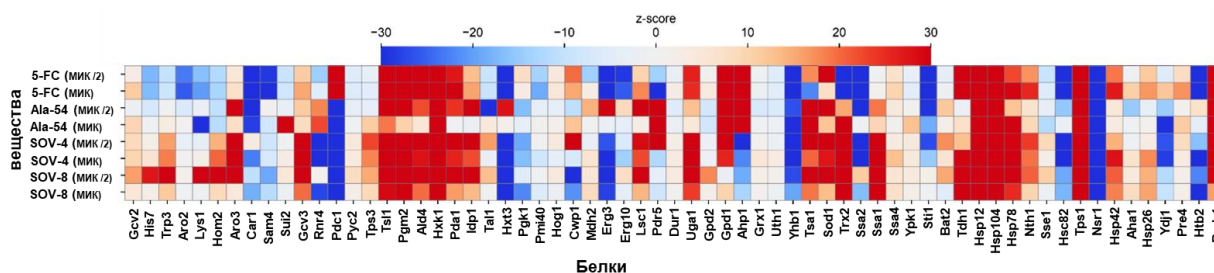


Рисунок 15 – Алкилированные аналоги цитидина вызывают увеличение уровня ряда белков, участвующих в биосинтезе аминокислот, и белков, ассоциированных с окислительным стрессом.

Статистический анализ с использованием однохвостого парного t-теста показал, что N4-алкил-цитидины значительно ($p < 0,05$) увеличили уровни белков Hom2, Aro3, Trp3 и Trx2, за исключением Ala-54, который значительно снижал уровни hom2 ($p > 0,05$), о чем свидетельствует отрицательное значение

t-статистики. С другой стороны, Ala-54 вызвал значительное увеличение уровня Pdr5, в то время как любой из SOV4 или SOV8 оказал незначительный эффект или значительно снизил уровень Pdr5 соответственно. Статистические значения и соответствующие p-значения для каждого агента представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние N4-алкил-цитидинов на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

	Белок	МИК/2				МИК			
		ср	со	t	p*	ср	со	t	p*
SOV4	Hom2	238,633	55,372	1,295	0,050	341,400	23,390	5,037	0,016
	Aro3	199,767	49,868	3,256	0,036	440,567	108,391	5,354	0,015
	Trp3	164,600	34,080	1,676	0,021	224,367	19,940	5,833	0,018
	Trx2	776,000	56,789	5,341	0,026	891,033	153,899	4,459	0,037
	Pdr5	719,167	187,598	2,248	0,113	340,567	17,998	-1,850	0,126
SOV8	Hom2	320,667	75,885	4,122	0,013	273,000	51,876	4,186	0,002
	Aro3	246,867	48,132	5,042	0,006	235,833	54,917	4,165	0,041
	Trp3	212,067	22,095	8,251	0,006	195,533	49,983	3,116	0,040
	Trx2	1048,167	160,762	4,135	0,049	1323,600	19,673	10,266	0,003
	Pdr5	602,533	87,316	-0,200	0,427	316,667	234,462	-1,891	0,133
Ala-54	Hom2	64,150	19,050	-4,568	0,000	77,850	19,650	-3,707	0,000
	Aro3	356,250	61,650	7,374	0,008	141,150	19,146	4,239	0,035
	Trp3	99,800	14,600	1,938	0,005	101,950	11,350	2,265	0,011
	Trx2	796,633	380,732	2,502	0,031	822,900	4,200	8,256	0,008
	Pdr5	784,200	78,900	9,371	0,005	1137,550	45,550	29,647	0,001

ср: среднее, со: стандартные отклонения, t: t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p < 0,05)

3.5.2.2 Тиазолидин-2,4-дион

3.5.2.2.1 Микозидин и его 3-бензоильное производное (ЗВ-Мус)

Микозидин[®], 3,5-замещенное производное тиазолидин-2,4-диона, является антифунгальным препаратом для местного применения, одобренным в РФ в 2008 году для лечения микозов кожи, таких как стопа атлета, паховый дерматомикоз и стригущий лишай, вызываемых дерматофитами и дрожжами; механизм действия не охарактеризован, но недавно было продемонстрировано, что его действие сопровождается разрушением клеточной стенки грибов [167].

Микозидин и его 3-бензоильное производное (ЗВ-Мус) были протестированы на то, как они влияют на синтез белков в клетках дрожжей. Они не показали характерного специфического профиля, за исключением

того, что как и азолы, они показали значительное увеличение (таблица 13, где $p < 0,05$) количества транспортера глюкозы Hxt3 (только при низкой концентрации микозидина) и переносчика лекарств Pdr5 (рисунок 6 и 16).

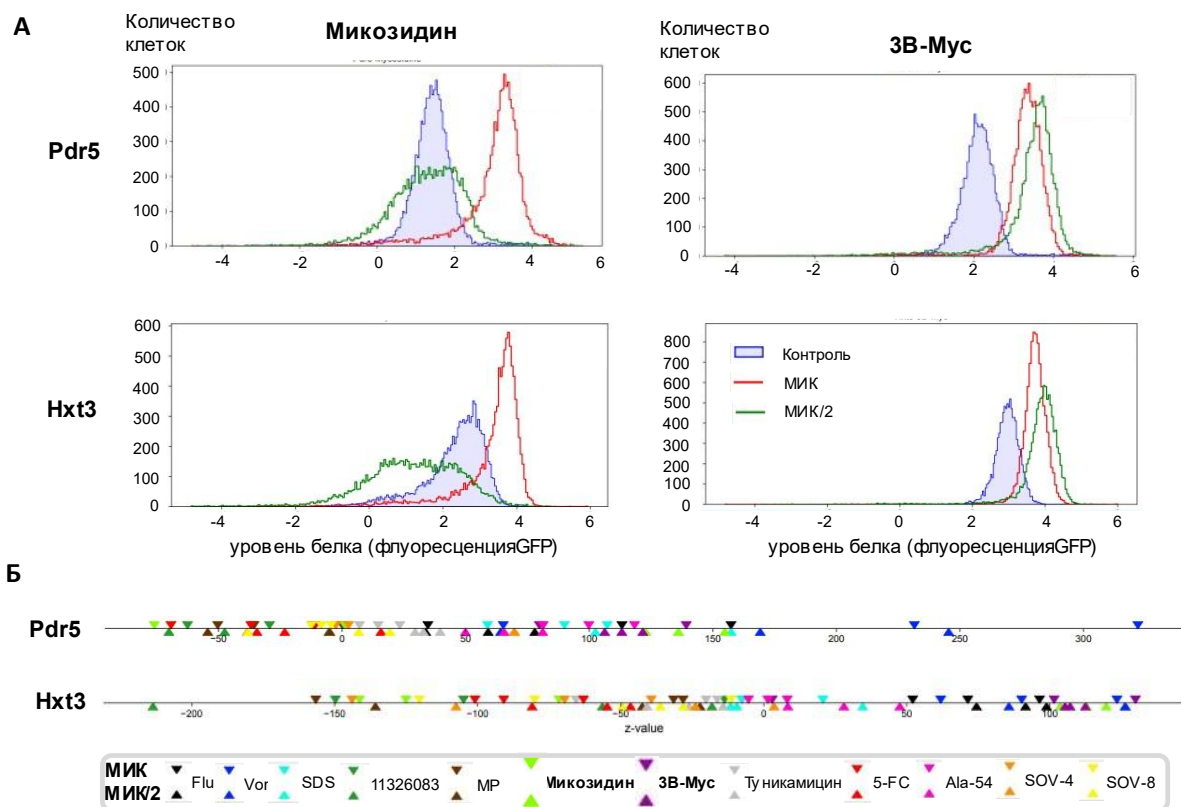


Рисунок 16 – Микозидин и его производное 3В-Мус индуцируют продукцию белков Hxt3 и Pdr5.

Таблица 13 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние Микозидина и его 3-бензоильное производное (3В-Мус) на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

	Белок	Микозидин				3В-Мус			
		ср	со	t	p*	ср	со	t	p*
МИК/2	Pdr5	1190,567	277,103	4,910	0,006	880,667	114,424	8,001	0,005
	Hxt3	1402,367	203,533	4,931	0,002	1183,100	101,134	8,073	0,005
МИК	Pdr5	136,700	72,071	-2,774	0,092	784,133	339,660	2,283	0,068
	Hxt3	134,733	55,420	-6,385	0,019	1149,067	404,816	2,056	0,076

ср: среднее, со: стандартные отклонения, t: t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение $p < 0,05$)

Чтобы проверить влияние различных концентраций микозидина на продукцию двух белков-транспортеров: Pdr5 и Hxt3, измерили их уровень их флуоресценции при различных концентрациях микозидина (от 0,5х до 4х МИК). Примечательно, что увеличение количества этих белков

наблюдалось только при концентрации микозидина $0,5 \times \text{МИК}$ и исчезало при его более высоких концентрациях (рисунок 17).

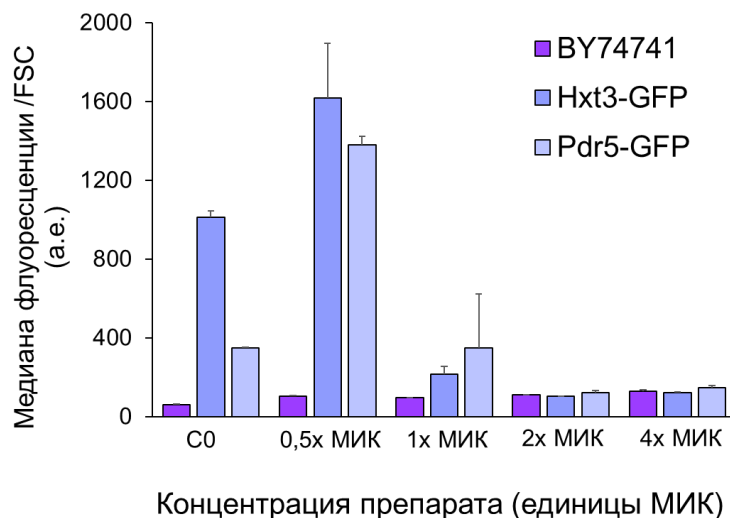


Рисунок 17– Уровень транспортера глюкозы Hxt3 увеличивается под действием микозидина и наличие белка снижает эффект вещества. Уровень транспортера ксенобиотиков Pdr5 также увеличивается, но этот белок не играет роли в токсичности. Цитометрический анализ показывает, что количество белков Pdr5 и Hxt3 увеличивается после обработки клеток *S. cerevisiae* микозидином в концентрации $0,5 \times \text{МИК}$ ($7,8 \text{ мкг/мл}$). Представленные данные – значения медиан флуоресценции живых клеток (не окрашиваются PI).

Определив, что уровень белков Pdr5 и Hxt3 увеличивается под действием микозидина, было решено проверить, влияют ли эти белки на чувствительность клеток к микозидину, используя штаммы, содержащие делеции соответствующих генов. Делеция *PDR5* не имела эффекта, в то время как делеция *HXT3* повышала чувствительность дрожжей к микозидину (рисунок 18).

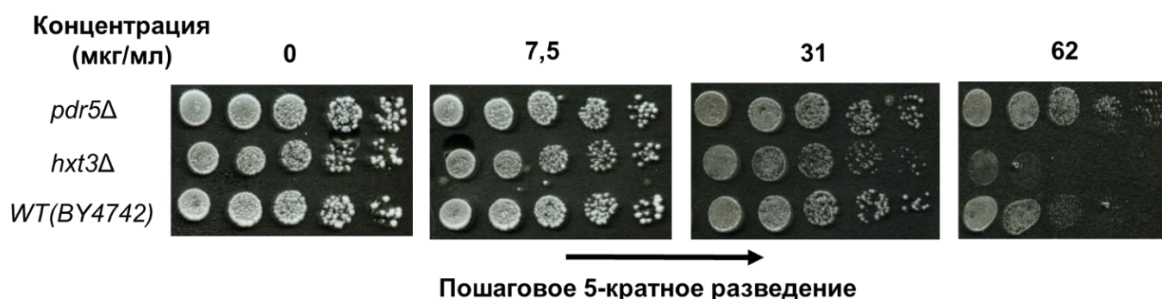


Рисунок 18 – Рост на среде YPD, содержащей различные концентрации микозидина, штаммов дрожжей BY4742 дикого типа и мутантных штаммов *pdr5Δ* и *hxt3Δ*.

Фунгицидное действие микозидина на дрожжевые клетки изучали путем определения количества колониобразующих единиц (КОЕ) дрожжей в его присутствии. Этот тест показал, что заметное фунгицидное действие микозидина проявляется только через 20 ч (рисунок 19).

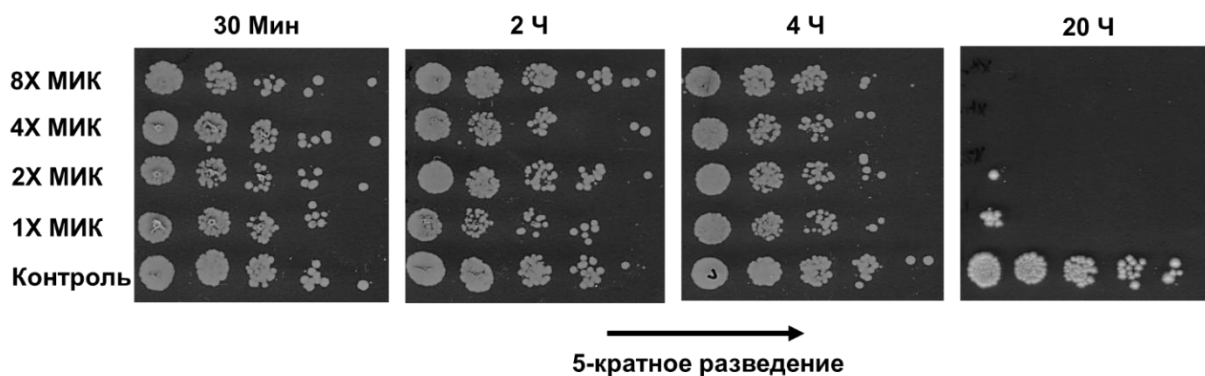
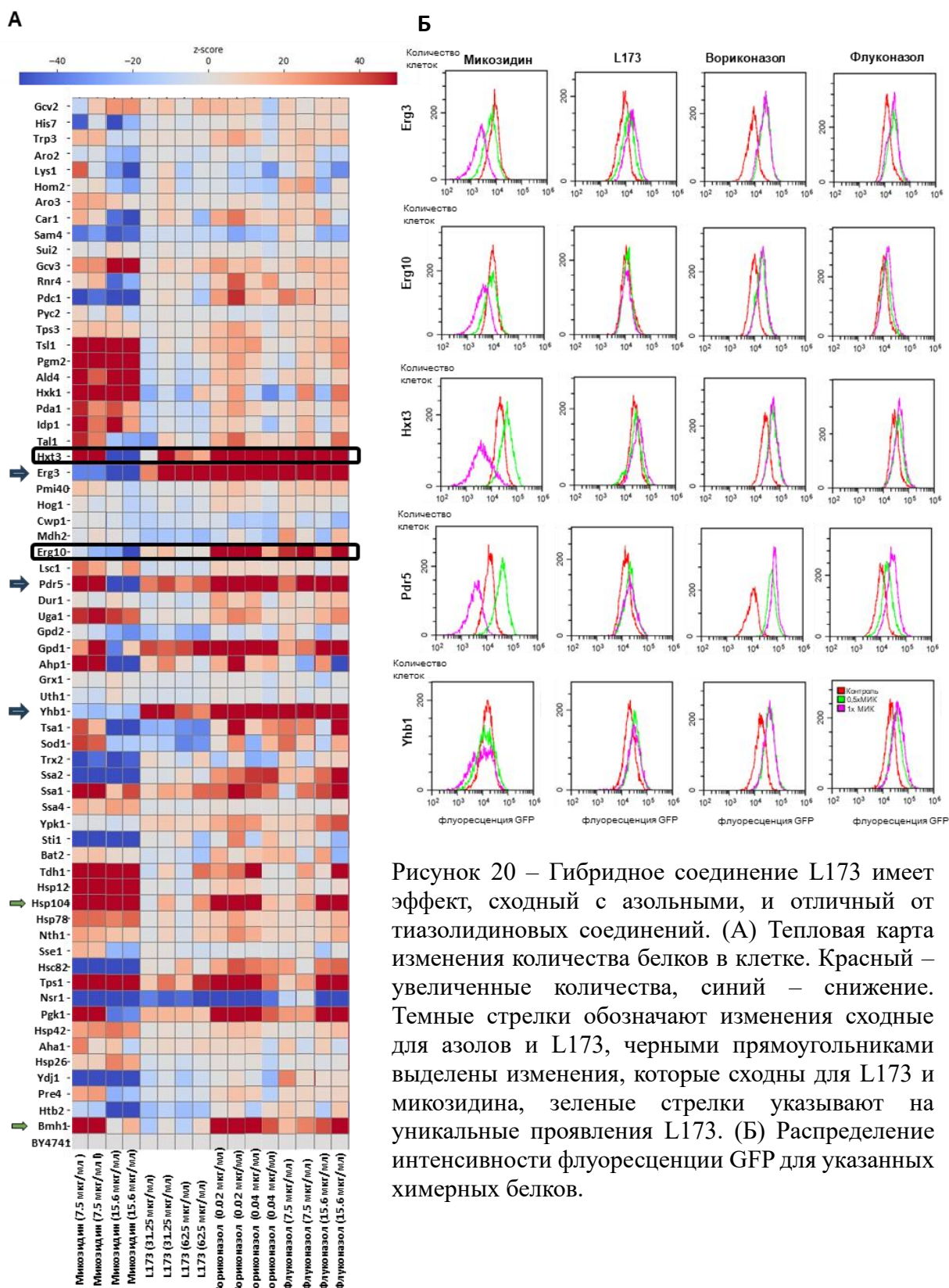


Рисунок 19 – Микозидин эффективно убивает клетки дрожжей только после 20-часовой инкубации.

3.5.2.2.2 Вещество L-173

Вещество L-173 представляет собой недавно синтезированное гибридное производное тиазолидина-2,4-диона (ТЗД) и триазола, которое проявляет высокую противогрибковую эффективность. Однако, на сегодняшний день не известно является ли его антигрибковое действие комбинированной активностью тиазолидина и азольного фрагмента, или механизм его действия отличается от действия исходных веществ. Используя метод SCRAPPY, сравнили клеточные эффекты вориконазола, флуконазола, микозидина и гибридного соединения L-173. Результаты показаны на рисунке 20. Оказалось, что реакция клеток на воздействие микозидина и азолов сильно различается. В то же время L-173 продемонстрировал реакцию, аналогичную реакции на азольные препараты, включая повышение уровней белков Erg3 и Yhb1.



Для статистического подтверждения визуальных наблюдений был рассчитан коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s) между значениями кратных изменений медианных уровней белка (таблица 14).

Таблица 14 - Значения коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s) между клеточными реакциями на L173, вориконазол, флуконазол и микозидин для обеих концентраций при двух повторениях эксперимента.

	Параметр	Микозидин и Флуконазол	Микозидин и Вориконазол	Микозидин и L173	Флуконазол и Вориконазол	Флуконазол и L173	Вориконазол и L173
МИК	Коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s)	0,3671	0,3615	0,0007867	0,7465	0,5582	0,651
	r^2	0,1348	0,1307	6,19E ⁻⁰⁷	0,5573	0,3116	0,4238
	P-значение	0,002627	0,003086	0,995	9,46E ⁻¹³	1,36E ⁻⁰⁶	4,33E ⁻⁰⁹
	Ковариация	131,25	129,25	0,2813	266,875	199,5625	232,7344
	Размер выборки (n)	65	65	65	65	65	65
	Статистика	3,1328	3,0778	0,006244	8,9049	5,3402	6,8072
МИК/2	Коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s)	0,3791	0,282	0,05503	0,5605	0,5288	0,446
	r^2	0,1437	0,07953	0,003028	0,3141	0,2797	0,1989
	P-значение	0,00184	0,02285	0,6633	1,2E ⁻⁰⁶	5,9E ⁻⁰⁶	0,0002
	Ковариация	135,531	100,203	19,6719	199,141	189,063	158,469
	Размер выборки (n)	65	65	65	65	65	65
	Статистика	3,2518	2,3332	0,4374	5,3717	4,9458	3,9553

Как показано в таблице 14, При концентрации МИК L-173 проявлял незначительную, очень малую положительную корреляцию с микозидом ($r_s = 0,000787$, $p = 0,995$), но значительную, большую положительную корреляцию с флуконазолом ($r_s = 0,558$, $p < 0,001$) и вориконазолом ($r_s = 0,747$, $p < 0,001$). Аналогично, при 0,5-кратном МИК L-173 продемонстрировал незначительную положительную корреляцию с микозидином ($r_s = 0,055$, $p = 0,663$), значительную среднюю положительную корреляцию с вориконазолом ($r_s = 0,446$, $p < 0,001$) и значительную большую положительную корреляцию с флуконазолом ($r_s = 0,5288$, $p < 0,001$).

На тепловой карте (рисунок 20) представлено, что был зафиксирован повышенный уровень Pdr5. При делеции гена *PDR5* наблюдалась повышенная чувствительность дрожжевых клеток к азолам и L-173, но не к микозидину (рисунок 21).

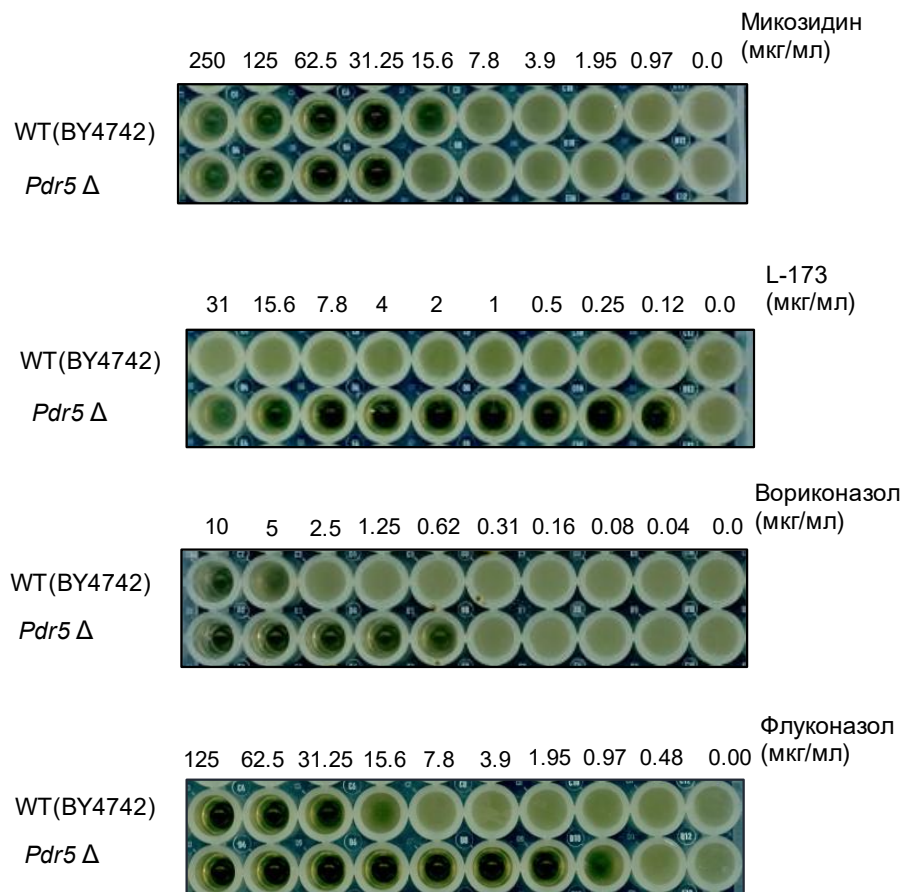


Рисунок 21 - определение МИК азолов, тиазолидина и их гибридного соединения L-173 для делеционных мутантов *pdr5*Δ штаммов дрожжей показал повышение чувствительности к азолам и L-173, но не к микозидину..

Также на тепловой карте (рисунок 20) видно., что в то время как, азолы вызывали увеличение количества *Erg10*, что является их отличительной чертой, микозидин уменьшал количество *Erg10*, L-173 вызывал промежуточную реакцию клетки. Более того, микозидин вызывал снижение интенсивности *Erg3* в отличие как от азолов, так и от L-173. После делеции *Erg3* наблюдалась повышенная чувствительность дрожжей к микозидину, тогда как резистентность как к азолам, так и к L-173 увеличивалась. (рисунок 22).

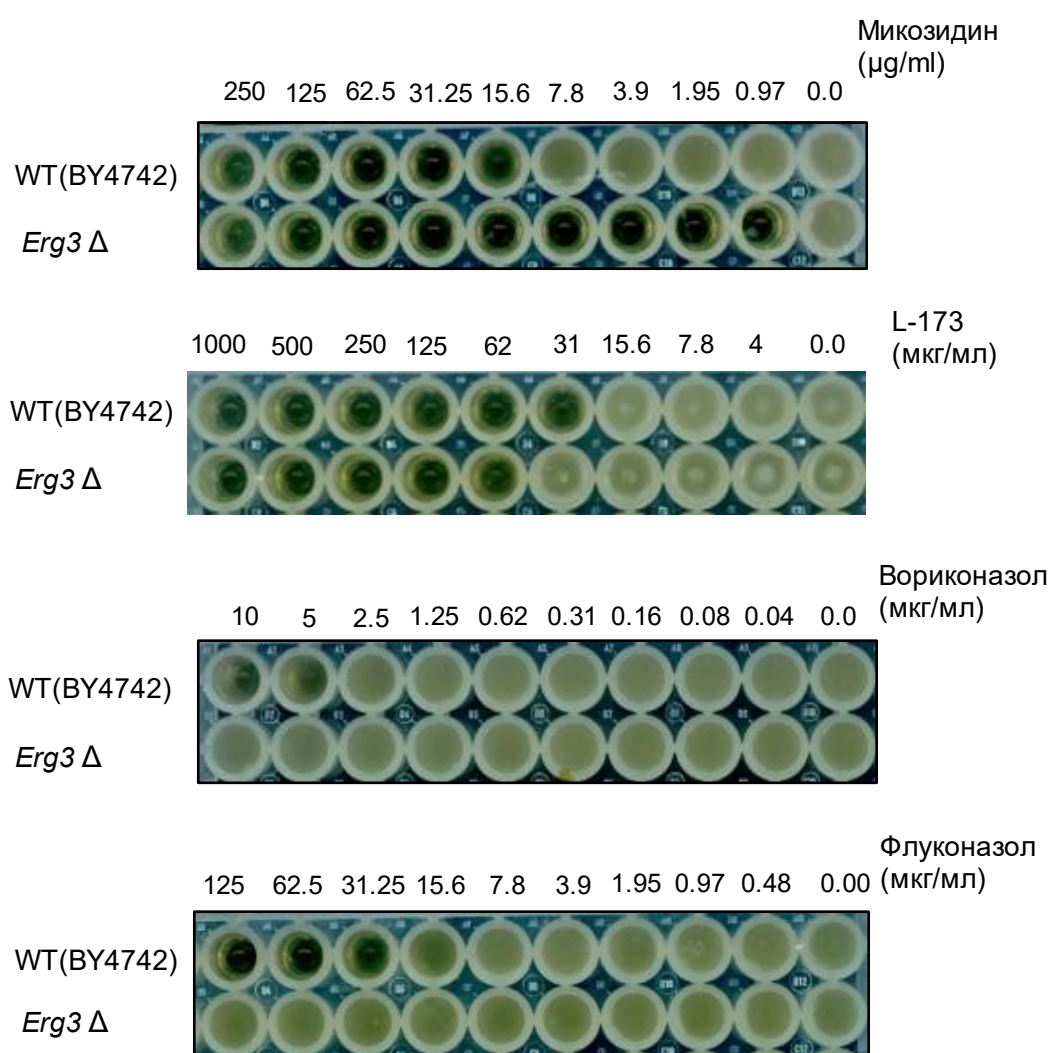


Рисунок 22 – Делеция гена *ERG3* вызывает чувствительность к микозидину и устойчивость к азолам и L173.

Обработка клеток веществом L-173 приводила к менее сильному увеличению количества Hxt3, чем азольными соединениями, в то время как микозидин демонстрировал увеличенное количество Hxt3 при концентрации МИК/2 и сниженное - при МИК. Наконец, L-173 проявлял некоторые особенности, которые не наблюдались ни для азолов, ни для микозидина, а именно отсутствие изменения количеств Hsp104 и Bmh1 (рисунок 23).

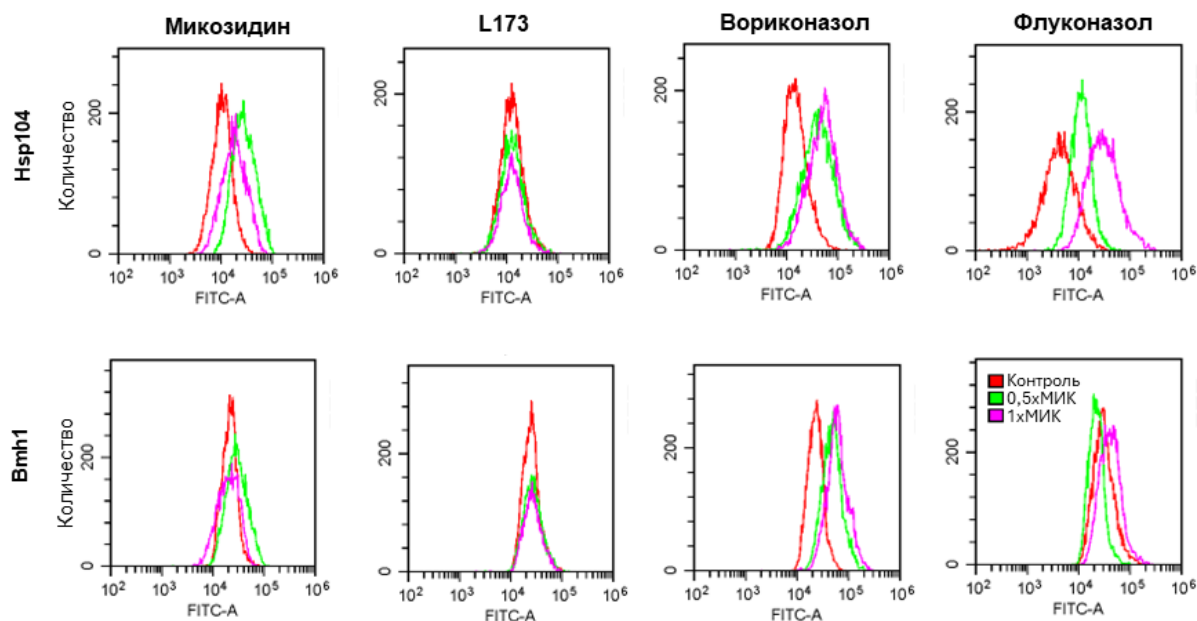


Рисунок 23 – Отсутствие изменений уровня белков Hsp104 и Bmh1 под действием L173, в отличие от азолов и микозидина.

Для статистического подтверждения влияния исследуемых веществ на интенсивность различных белков был проведен парный t-тест Стьюдента для сравнения интенсивности флуоресценции белков между обработанными группами (при $0,5 \times$ МИК или $1 \times$ МИК) и контрольной группой. Результаты, представленные в таблице X, показали, что соединение L-173, по сравнению с азолами и микозидином, не оказывает значимого влияния ($p > 0,05$) на уровни белков Bmh1 и Hsp104. Напротив, L-173, аналогично азолам, значительно ($p < 0,05$) увеличивает уровни белков Erg3, Pdr5 и Yhb1. Что касается белка Hxt3, его уровень значительно ($p < 0,05$) повышался при обработке азолами и L-173, тогда как микозидин вызывал значительное увеличение только при концентрации $0,5 \times$ МИК.

Таблица 15 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние микозидина, азолов и L173 на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

	Белок	МИК/2				МИК			
		ср	со	t	p*	ср	со	t	p*
L-173	Erg3	539.600	166.400	3.134	0.039	534.150	8.150	38.835	0.000
	Erg10	359.450	2.350	5.188	0.022	320.650	11.650	0.787	0.032
	Yhb1	1040.550	53.750	11.265	0.000	918.650	91.050	5.139	0.007
	Hxt3	1066.800	212.600	1.823	0.102	1065.9	52	7.397	0.010
	Pdr5	618.350	0.450	19.236	0.001	602.250	4.450	17.589	0.001
	Bmh1	877.200	36.700	-1.475	0.198	889.2	42.9	-0.885	0.290
	Hsp104	426.500	53.200	1.582	0.165	450.450	66.950	1.879	0.129
Флуконазол	Erg3	655,033	53,043	7,730	0,0006	573,233	157,091	3,319	0,022
	Erg10	370,5	65,501	2,216	0,033	419	84,225	2,712	0,036
	Yhb1	1036,3	208,303	3,142	0,007	1030,933	202,601	3,163	0,003
	Hxt3	1235.333	201.598	2.977	0.006	1142.8	188.171	2.516	0.013
	Pdr5	576,767	203,848	2,334	0,047	737,6	308,256	2,462	0,047
	Bmh1	1047.767	203.458	1.940	0.074	897.533	77.626	1.523	0.047
	Hsp104	462.333	9.364	4.131	0.039	674.667	137.253	3.636	0.045
Вориконазол	Erg3	729,233	102,828	8,382	0,006	667,367	67,613	11,116	0,004
	Erg10	451,8	83,532	3,747	0,012	455,9	100,962	3,230	0,020
	Yhb1	1122,033	239,828	3,493	0,011	1059,167	230,151	3,187	0,012
	Hxt3	1425.867	396.127	2.653	0.023	1314.467	380.103	2.278	0.028
	Pdr5	1086,567	530,038	2,559	0,049	1066,833	470,364	2,807	0,041
	Bmh1	1186.233	280.022	2.318	0.045	1317.467	334.308	2.624	0.040
	Hsp104	733.667	199.831	3.025	0.048	672.233	153.245	3.249	0.046
Микозидин	Erg3	131.533	6.612	-3.607	0.043	42.033	13.586	-7.056	0.014
	Erg10	228.967	45.372	-0.594	0.143	139.900	29.101	-2.919	0.038
	Yhb1	340.633	40.970	-1.039	0.120	320.900	88.482	-1.114	0.028
	Hxt3	1402,367	203,533	4,931	0,002	134,733	55,420	-6,385	0,019
	Pdr5	1190,567	277,103	4,910	0,006	136,700	72,071	-2,774	0,092
	Bmh1	1051.967	193.242	2.214	0.012	844.800	90.935	0.969	0.109
	Hsp104	844.400	242.407	3.536	0.035	806.933	73.916	10.713	0.005

ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

3.6 Неоднородные изменения уровней митохондриальных белков в клеточной популяции

Возможность проточной цитометрии предоставлять данные на уровне отдельных клеток позволяет методу SCRAPPY ответить на вопрос о том, могут ли различные клеточные популяции в суспензии по-разному реагировать на воздействие лекарственных препаратов. Распределение флуоресценции для каждого белка из панели проанализировали и провели их скрининг вручную. В то время как большинство белков реагировало на воздействие антимикотиков одинаково (унимодально), уровень митохондриального белка Ald4-GFP или широко распределялся по популяции клеток или был несколько бимодальным. В ответ на обработку дрожжей некоторыми препаратами (5-FC, медь-транспортные препараты и тиазолидины) часть клеток сохранила свой исходный уровень флуоресценции, в то время как другая (значительная) часть продемонстрировала повышенный уровень белка Idp1, который также является митохондриальным белком, продемонстрировал такую же реакцию, но только после лечения тиазолидинами, как показано на рисунке 24.

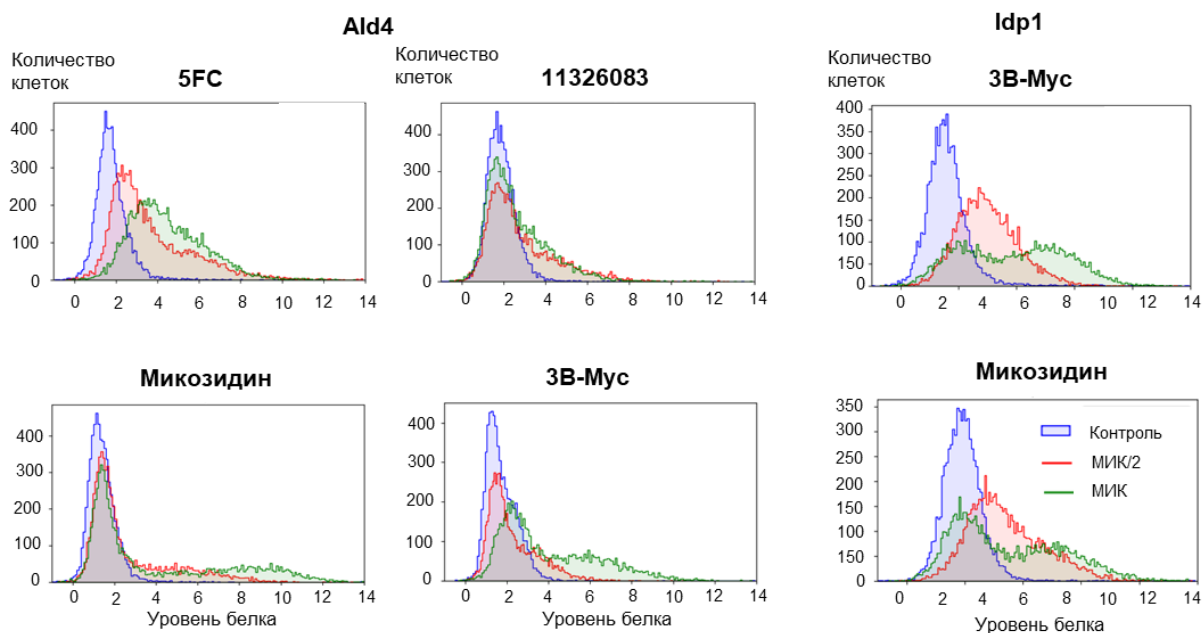


Рисунок 24 – Митохондриальные белки Ald4 и Idp1 проявляют неоднородную реакцию на воздействие различных веществ. Распределение после обработки ненормально или бимодально.

Для подтверждения данных, полученных с помощью проточной цитометрии, изучали локализацию соответствующих белков в клетках при их обработке микозидином с помощью флуоресцентной микроскопии. В контрольных клетках (без обработки изучаемых препаратов) митохондрии представляли собой единые длинные нитевидные структуры, а после обработки клеток препаратами, в случае обоих белков наблюдалось явное изменение морфологии митохондрий, а также гетерогенные изменения количества белка. Это полностью подтверждает данные, полученные методом проточной цитометрии (рисунок 25).

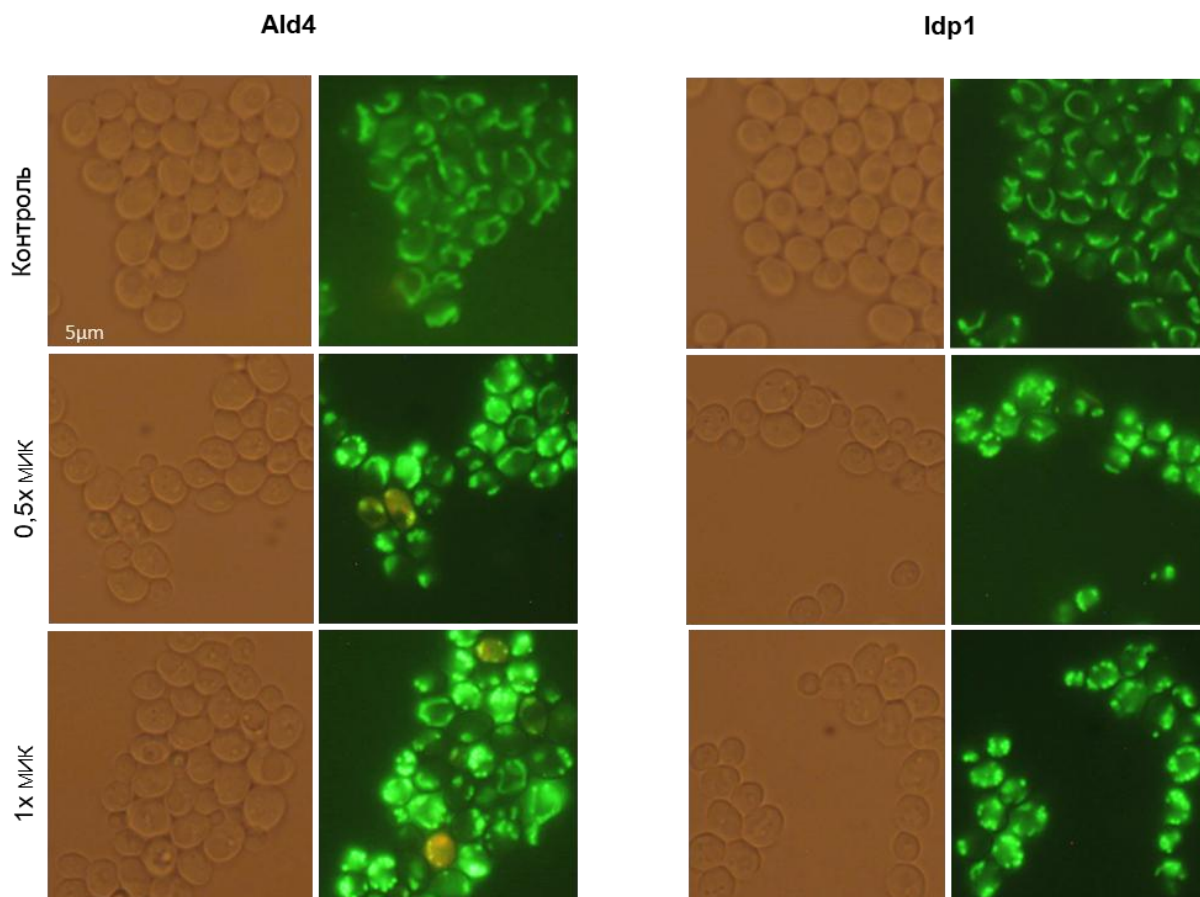


Рисунок 25 – Изменение морфологии митохондрий под действием микозидина. Флуоресцентная микроскопия в условиях видимого света и флуоресценции GFP дрожжевых клеток с мечеными GFP белками Ald4-GFP и Idp1-GFP, обработанных микозидином.

3.7 Обсуждение по главе III

Для проверки противогрибкового эффекта различных веществ относительно штамма дикого типа BY4741, использовали их в концентрациях, равных МИК и МИК/2, чтобы клетки могли ответить на воздействие, сохраняя при этом пролиферацию. Для получения достоверно измеряемой реакции клеток инкубацию с изучаемыми веществами проводили в течение шести часов. Это время позволяет клеткам реализовать свою реакцию на приложенные стимулы и является одновременно удобным для проведения эксперимента.

Количество многих изучаемых белков, связанных с реакцией на тепловой шок, протеостаз и углеводный обмен, увеличивалось при

воздействии на клетки различных веществ. В то же время наблюдались исключения, как это было с азолами (флуконазол и вориконазол) и, в некоторой степени, SDS. Эти соединения продемонстрировали минимальную или ограниченную индукцию генов, кодирующих белки шапероны и белки углеводного обмена.

Проведенный анализ был направлен на выявление специфических клеточных реакций на лекарства с известными механизмами действия. Флуконазол и вориконазол отчетливо повышали уровень Erg3-GFP и Erg10-GFP как и известные азолы, нацеленные на Erg11 и влияющие на липидный обмен, и подобное изменение протеома описано в литературе [168]. Кроме того, азолы приводили к увеличению количества транспортера лекарств Pdr5, известного тем, что он снижает токсичность азолов путем их откачивания из клетки [169]. Также наблюдали четкое увеличение в количестве белков Yhb1 и Tsa1. (в меньшей степени), что подтвердило литературные данные о том, что обработка грибов азолами приводит к окислительному стрессу [170-174].

продемонстрировали очень похожую реакцию в ответ на воздействие на них веществ МР и 11326083 что, по-видимому, можно объяснить их одинаковым механизмом действия, хотя синтез некоторых белков, индуцировался 11326083 менее эффективно, чем МР. Как и ожидалось, во время притока в клетки меди [175], наблюдается значительная реакция клеток на окислительный стресс: повышаются уровни Ahp1, Sod1, Trx2, а также очень сильно увеличивается количество шаперона Ssa4, что указывает на протеотоксический стресс, вероятно, из-за окисления белков. С другой стороны, оба соединения вызывали снижение уровня Lys1, что не проявлялось при действии других лекарств. Примечательно, что это согласуется с известной способностью пиритиона инактивировать в дрожжах белки Fe-S кластеров через приток меди [164], включая аконитазы, которые участвуют на ранних стадиях биосинтеза лизина [176]. Более того, как МР, так и 11326083 вызывали увеличение количества белков Cup1-1-GFP и Cup1-2-GFP, которые

являются металлотионеинами, участвующими в детоксикации меди, но воздействие, вызванное 11326083 было намного слабее чем МР при концентрациях равных их МИК. Количества белков Cup1-1-GFP и Cup1-2-GFP при воздействии вещества 11326083 увеличивалось при увеличении его концентрации в несколько раз больше чем его МИК, в отличие от МР, когда количество этих белков начинало снижаться при концентрации равной два МИК. На основании этих различий в действии 11326083 и МР можно предположить, что, хотя основной механизм их действия, заключается в увеличении притока ионов меди в клетку, они оказывают еще какое-то не одинаковое воздействие на дрожжи.

Туникамицин - антибиотик, продуцируемый бактериями *Streptomyces clavuligerus* и *S. lysosuperficus* [177]. Известно, что туникамицин ингибирует первый этап N-гликозилирования белков эндоплазматического ретикулума (ЭПР), что приводит к неправильному сворачиванию многих белков [178]. Как и следовало ожидать, наблюдали специфическое повышение концентрации белка, который превращает фруктозо-6-фосфат в маннозо-6-фосфат, необходимый для гликозилирования в секреторном пути белков Pmi40 и Pre4. Белок Pre4, участвующий в сборке протеасом, локализуется в мембране ЭПР. Кроме того, протеотоксическое окислительное повреждение белков, вызванное туникамицином, на что указывает значительное увеличение концентрации белка Tsa1 – пероксиредоксина, являющегося партнером Hsp70, который облегчает взаимодействие с окислительно поврежденными белками [179]; и специфическим увеличением концентрации белков Aha1 и Ydj1, которые являются партнерами шаперонов Hsp90 и Hsp70 соответственно.

Туникамицин также является хорошим примером вещества, используемого для модификации метода SCRAPPY. Несмотря на то, что использование коллекции GFP-меченных белков является распространенным явлением, некоторые белки, у которых белок GFP расположен на С-конце (как в используемой коллекции) не могут быть взяты в рассмотрение, так как их

функция при этом несколько нарушается. Одним из таких белков, представляющих интерес, является Kar2, шаперон ЭПР, который указывает на присутствие развернутых белков и запускает клеточный ответ для решения этой проблемы [180]. Примечательно, что Kar2-GFP (по крайней мере, тот, который присутствует в имеющейся коллекции GFP-меченных белков) не локализован в ЭПР, как должно быть в случае с полностью функциональным белком. Это не препятствует его использованию в качестве индикатора активности промотора. Исследование поведения белка Kar2 в качестве «дозорного» состояло в изучении его в модификации, когда ген *KAR2* был поставлен под контроль промотора, меченного флуоресцентным белком P_{KAR2} -mCherry, что давало возможность определять активацию синтеза белка, а не его суммарное количество. При воздействии туникамицина наблюдали более выраженный ответ белка под промотором P_{KAR2} -mCherry по сравнению с белком Kar2-GFP. Полученный результат показывает эффективность использования промоторных «дозорных» в подходе, подобном SCRAPPY, и демонстрирует, что некоторые репортные конструкции на основе промоторов могут иметь преимущества по сравнению с флуоресцентно мечеными белками.

В экспериментах, как SOV-4, так и Ala-54 приводили к повышению продукции белка Pdr5. Примечательно, что, в то время как количество Pdr5, не влияет на чувствительность клеток к SOV-4, Ala-54 в присутствии делеции Pdr5 становится почти таким же токсичным, как и другие N4-алкилцитидины, как было показано одним из коллег в лаборатории. Был получен интересный и несколько необычный результат, показывающий, что довольно небольшое изменение (обмен -NH₂ на -OH в сахарном фрагменте) в формуле изучаемых веществ, влияет на роль Pdr5 в ответе клетки на действие антимикотиков [181]. На основании тепловых карт действия SOVs, полученных методом SCRAPPY, которые показали повышение уровня белков (Hom2, Aro3), участвующих в синтезе ароматических аминокислот, и белка окислительного стресса (Trx2),

один из коллег в лаборатории исследовал влияние специфических нарушений в механизме биосинтеза аминокислот на противогрибковую активность SOV. Эта работа заключалась в использовании штаммов с делециями генов, кодирующих белки участвующие в биосинтезе тирозина и триптофана. Кроме того, было изучено влияние антиоксидантов (N-ацетилцистеина, аскорбиновой кислоты и глутатиона) на токсичность SOV. Хотя механизм действия SOV остается неясным, данные убедительно демонстрируют, что эти соединения индуцируют в клетке специфический тип окислительного стресса. Этот тип стресса отличается от стресса, вызванного другими соединениями, вызывающими окислительный стресс. Показали, что ароматические аминокислоты необходимы для выживания в условиях этого стресса, даже в присутствии антиоксидантов [181]. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы понять, как алкилированные цитидины вызывают окислительный стресс и почему он специфически влияет на ароматические аминокислоты.

SDS широко используется в качестве агента, вызывающего стресс, нарушая клеточную стенку и/или плазматическую мембрану [182-184]. Он также влияет на прохождение клеточного цикла [161, 185]. Наблюдали увеличение количества Trx2 при действии на клетки SDS. Интересно, что SDS был не очень эффективен в увеличении продукции шаперонов и белков углеводного обмена (явление, наблюдаемое для большинства других протестированных соединений, за исключением азолов). Несмотря на зависимость чувствительности клеток к SDS от нормального функционирования пути биосинтеза ароматических аминокислот [183, 185], в клетках не наблюдалось повышение количества белков, участвующих в синтезе ароматических аминокислот, при воздействии SDS, в то время как воздействие алкилированных цитидинов приводило к их увеличению.

Метод SCRAPPY применили для изучения действия производных тиазолидина: микозидин и его 3-бензоильное производное (3B-Мус) и вещество L-173. Как и азолы, они показали увеличение количества

транспортера глюкозы Hxt3 (для микозидина только при его низкой концентрации) и переносчика лекарств Pdr5. Интересно, что ранее сообщалось, что производные тиазолидина являются эффективными блокаторами транспорта глюкозы [186], хотя, эта статья позже была отозвана. Тем не менее, еще несколько сообщений указывают на причастность веществ на основе тиазолидина к транспорту глюкозы [187, 188].

Делеция гена *PDR5* не вызывала повышенной чувствительности к микозидину, в отличие от делеции гена *HXT3*. Это указывает на то, что микозидин может не быть субстратом транспортера Pdr5 и что увеличение его количества может быть неспецифической реакцией клетки на стресс, вызванный препаратом. Аналогичный эффект недавно был показан для протонофора пентахлорфенола [189].

Интересно, что делеция гена *HXT3* повышала чувствительность дрожжей к препарату, что говорит о том, что реакция транспортеров глюкозы может быть необходима для адаптации к препарату. Поскольку дрожжи имеют множество переносчиков глюкозы, может оказаться так, что один или несколько из них являются мишенями для микозидина или что транспорт глюкозы является механизмом резистентности. Таким образом, исследование получило первые данные о механизме действия микозидина и показала, что он отличается от других классических антимикотиков, и заслуживает дальнейшего изучения.

Кроме того, делеция гена *ERG3*, кодирующего важный белок, участвующий в синтезе эргостерола, повышает чувствительность к микозидину, в отличие от чувствительности к азолам и L-173, что может быть важным для комбинированной терапии, поскольку удаление *ERG3* вызывает устойчивость к азолам.

наконец, исследование показало, что проточная цитометрия эффективно выявляет разнообразные клеточные ответы на антимикотики, особенно на

митохондриальные белки Ald4-GFP и Idp1. Флуоресцентная микроскопия подтвердила эти результаты, обнаружив изменения в морфологии митохондрий, подчеркивая сложность реакций клеточных популяций.

Недостатком метода SCRAPPY является сложность идентификации белков с низким уровнем экспрессии. Эта проблема может быть решена путем изучения новых флуоресцентных белков, которые являются более яркими или имеют спектры с более слабой фоновой флуоресценцией. Еще одной серьезной проблемой является продолжительность инкубации клеток с изучаемым препаратом, поскольку используемый шестичасовой период не дает возможность засечь непродолжительные клеточные реакции, такие как например, изменение уровня кальция в дрожжевых клетках [190]. Эта проблема может быть решена применением фиксации клеток в разные моменты времени после начала обработки, однако такой подход может вызывать увеличение трудностей по детекции фиксированных белков, поскольку они теряют свою светимость. В то же время ряд исследований уже предложил некоторые модификации флуоресцентных белков, обладающих повышенной устойчивостью к химической фиксации [191], которая особенно актуальна при проведении CLEM (correlative light-electron microscopy — коррелированная световая-электронная микроскопия)[192].

В остальном метод SCRAPPY имеет ряд преимуществ, включая скорость и простоту сбора и анализа данных, низкую стоимость анализа и умеренное потребление новых биологически активных веществ, которые часто доступны в ограниченных количествах, например, при создании ведущих соединений. Эти преимущества метода SCRAPPY позволяют тестировать несколько условий обработки клеток одним и тем же веществом, что иногда является непомерно дорогим и трудоемким для омиксных методов.

ГЛАВА IV. МОНИТОРИНГ КОЛИЧЕСТВА GFP-МЕЧЕНОГО ГИСТОНА НТВ2 ДЛЯ БЫСТРОЙ ДЕТЕКЦИИ ВЛИЯНИЯ АНТИМИКОТИКОВ НА КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ ДРОЖЖЕЙ

Понимание того, как различные соединения влияют на клеточный цикл, имеет большое значение. Клетки часто останавливают деление, чтобы избежать стресса и предотвратить гибель. Эта остановка позволяет клеткам восстанавливать повреждения и адаптироваться к неблагоприятным условиям, повышая их выживаемость. Изучение этих эффектов дает возможность лучше понять реакции клеток на стресс и выявить потенциальные терапевтические мишени для лечения заболеваний, связанных с нарушением регуляции клеточного цикла [193, 194].

Гистоны интенсивно изучались на модельных организмах и у людей. Синтез гистонов регулируется на протяжении всего клеточного цикла для удовлетворения потребности клетки в репликации ДНК и синтезе хроматина. Гены гистонов уникальны тем, что существуют в нескольких копиях у всех организмов, за исключением *S. cerevisiae*, который имеет только две копии каждого основного гена гистонов ядра, что делает его удобной моделью для изучения. У дрожжей *S. cerevisiae* есть четыре основных белка-гистона: Н2А, Н2В, Н3 и Н4, кодируемые специфическими генами в их геноме [195].

Геномная архитектура *S. cerevisiae* имеет две пары репликационно-зависимых гистонов: ННТ1–ННФ1 и ННТ2–ННФ2, которые кодируют основные гистоны Н3 и Н4 соответственно. Кроме того, геном включает две пары генов, НТА1-НТВ1 и НТА2-НТВ2, которые отвечают за кодирование гистонов Н2А и Н2В. *S. cerevisiae* обладает также индивидуальными генами, кодирующими различные варианты гистонов, включая Н2А.З (кодирует НТЗ1), центромерный Н3 (кодирует ССЕ4) и гистон Н1 (кодирует ННО1) [196, 197]

Для того, чтобы проверить, могут ли гистоны, помеченные GFP, предоставлять информацию, аналогичную измерениям содержания ДНК,

сначала определили, какие гистоны лучше подходят для отслеживания содержания ДНК в дрожжевых клетках. Для этого использовались штаммы *S. cerevisiae* из систематической коллекции штаммов с GFP-мечеными белками. Методом проточной цитометрии были исследованы (на стадии экспоненциально растущей культуры) штаммы, продуцирующие 10 различных меченых гистонов (рисунок 26). В случае гистонов Nhf1, Nho1, Hta2, Htb1, Htb2 и Htz1 флуоресценция GFP значительно превышала аутофлуоресценцию, однако только в случаях Hta2 и Htb2 наблюдались выраженные бимодальные распределения интенсивности флуоресценции, как и распределения содержания ДНК, что указывало на соответствие количества гистонов в клетках содержанию в них ДНК. На основе этих наблюдений Htb2-GFP был выбран для последующих экспериментов, поскольку этот меченный белок чаще всего использовали в литературе для визуализации ядра в живых клетках [198]. Стоит отметить, что соответствие количества ДНК и гистона Htb2-GFP также было подтверждено для двух видов дрожжей, включая *S. cerevisiae* прямыми экспериментами моей коллеги, результаты которой вошли в нашу совместную публикацию на данную тему [199].

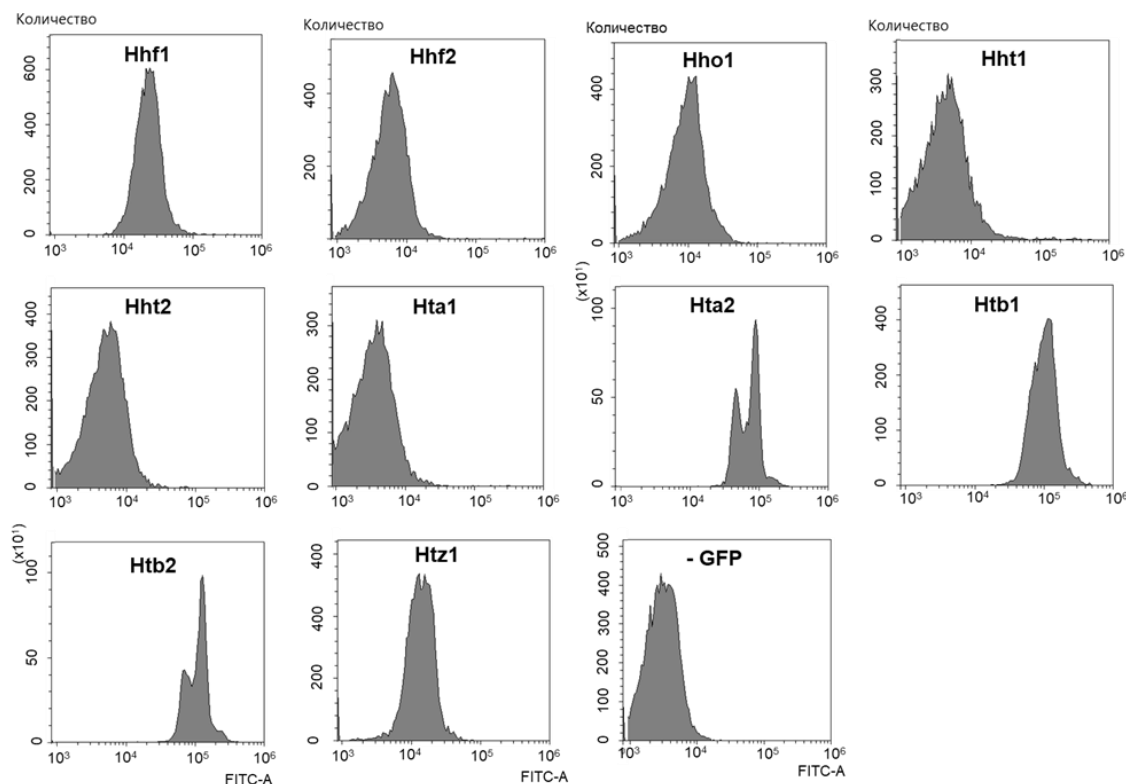


Рисунок 26 - Распределение флуоресценции GFP-меченых гистонов в клетках дрожжей. Штамм BY4741, который не экспрессирует GFP, был использован в качестве референсного автофлуоресценции (-GFP).

Цитометрию использовали для анализа флуоресцентного белка Htb2-GFP, в живых клетках *S. cerevisiae* в фазе экспоненциального роста. Как показано на рисунке 27, делящиеся клетки демонстрируют меньшую популяцию клеток с одним комплектом ДНК (1C) и большую популяцию клеток с реплицированной ДНК (2C).

Для изучения механизма действия различных антимикотиков дрожжевые клетки *S. cerevisiae* BY4741, в которых белок Htb2 был помечен GFP, в течение 6 часов обрабатывали различными антифунгальными соединениями (Флуконазол, Вориконазол, 2 меркаптопиридин-N-оксид (MP), 11326083, микозидин, 3-бензоильное производное микозидина (ЗВ-Мус), туникамицин, 5-фторцитозин (5-FC), SDS и SOV4) в концентрациях равных МИК и МИК/2. Затем клетки окрашивали йодидом пропидия (PI) и измеряли флуоресценцию с помощью проточной цитометрии. Как показано, соединения

азолов не изменяли распределение количества гистонов (рисунок 27А), в то время как тиазолидины (микозидин и 3В-Мус) и соединения ионофоров меди (МР, 11326083) вызвали арест клеток с количеством гистонов, соответствующим фазе 1С. Туникамицин и 5-FC вызывали накопление в популяции клеток в фазе 2С. SDS, по-видимому, вызывает задержку развития клеток в S-фазе при более низких концентрациях и заставляет клетки останавливаться в фазе 2С при концентрации равной МИК. SOV4 приводил к тому, что большинство живых клеток демонстрировали обилие гистонов, соответствующих фазе 1С. Интересно, что, поскольку SDS, и SOV4 вызывали значительную гибель клеток, наблюдали пик клеток, окрашенных йодидом пропидия (PI), перед 1С (рисунок 27Б).

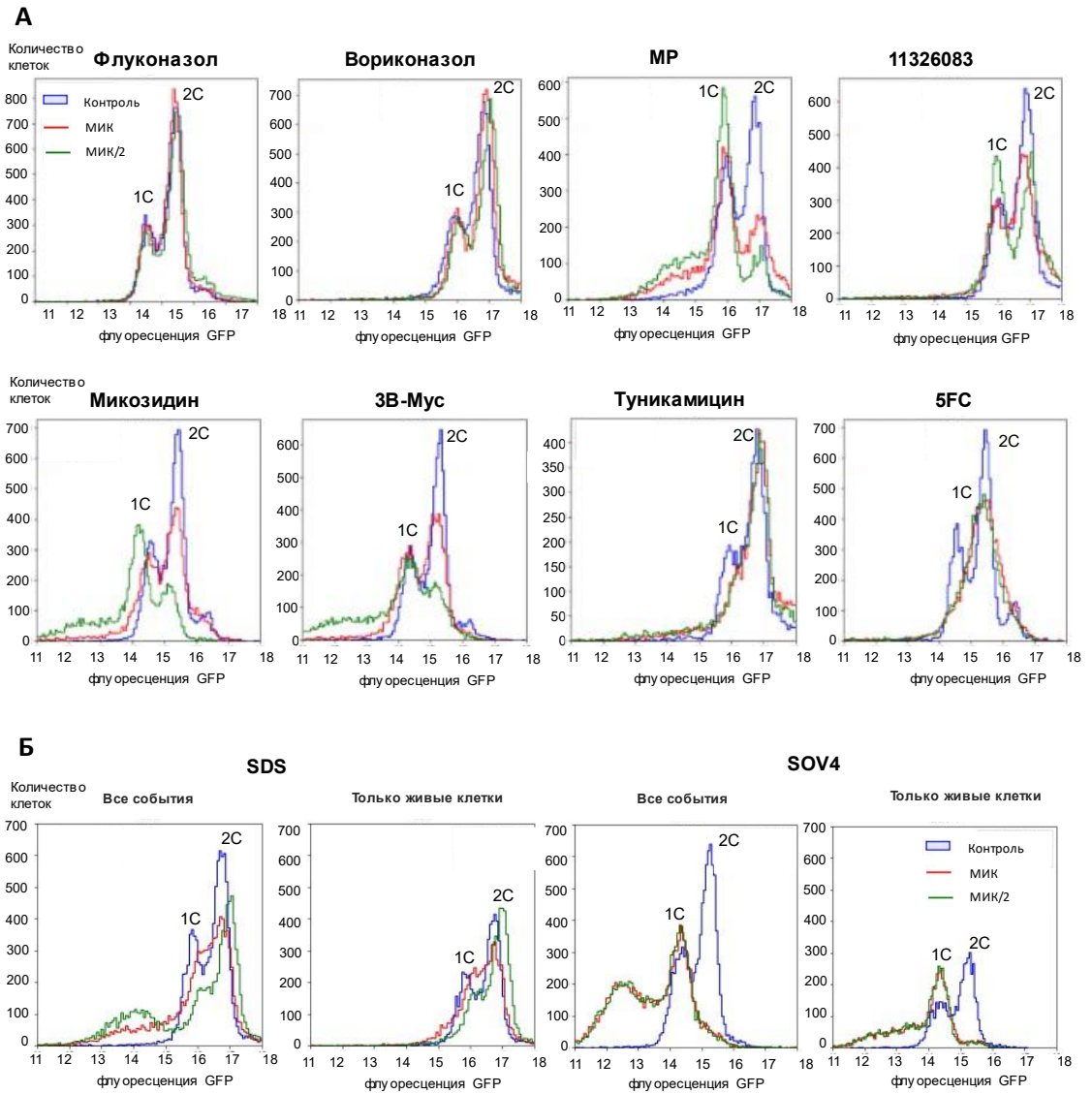


Рисунок 27 – Количественная оценка содержания гистонов с использованием Htb2-GFP демонстрирует влияние антифунгальных соединений на клеточный цикл. (А) Цитометрические данные об изменениях флуоресценции Htb2-GFP в PI-отрицательных клетках; (Б) цитометрические данные об изменениях флуоресценции Htb2-GFP в PI-отрицательных клетках (отмечено - только живые клетки) и во всех клетках (отмечено - все события).

4.1 Обсуждение по главе IV

Причины различий в распределении (рисунок 26) различных белков-гистонов не ясны, но есть некоторые возможные объяснения. Одной из причин могут быть дефекты в генах из библиотеки GFP, поскольку, например, в работе [14] показано, что гистон Hhf2 в отличие от результатов демонстрирует бимодальное распределение. Возможно, поэтому некоторые штаммы демонстрировали флуоресценцию, близкую к контрольной. Известно, что Htz1 присутствует только в некоторых нуклеосомах, поэтому его уровень может не точно соответствовать количеству ДНК [200] и может быть ниже, чем у некоторых основных гистонов.

Причины различий между Htb1 и Htb2, а также Hta1 и Hta2 неясны, однако Nuh et al.[17] также отметили более низкое количество Htb1/Hta1 по сравнению с Htb2/Hta2. Возможно, наличие тега GFP влияет на количество белка первой пары, но не второй. Несмотря на то, что в данных уровень Htb1 относительно высок, он не показал четкого разделения пиков. Другая причина может заключаться в том, что пришитый GFP влияет на функциональность белка для одних гистонов сильнее чем для других, и, таким образом, искажает результаты измерений.

Данные согласуются с исследованием, проведенным одним из сотрудников нашей лаборатории [199], который анализировал экспоненциально растущие и стационарные культуры двух видов дрожжей, а именно *S. cerevisiae* и *O. parapolymorpha*, чьи гены *HTB2* были помечены последовательностью, кодирующей GFP. Исследование продемонстрировало, что распределения измеренных количеств ДНК и гистонов очень похожи.

Htb2-GFP был выбран для мониторинга влияния тестируемых препаратов на клеточный цикл, поскольку этот химерный белок часто используется в литературе для наблюдения ядра в естественных условиях. Как и ожидалось, несмотря на то, что все протестированные соединения останавливали деление клеток, способ, которым они это делали, различался.

Например, азолы не изменяли распределение количества гистонов, в то время как тиазолидины (микозидин и 3Мус) и соединения ионофоров меди (МР и соединение 11326083) вызывали клеточный арест с количеством гистонов, соответствующим 1С. Насколько нам известно, это первое сообщение о таком механизме действия ионофоров меди. и тиазолидинов.

В соответствии с литературными данными, 5-FC и туникамицин вызывали накопление клеток в 2С популяции [201]. Благодаря использованию окрашивания йодидом пропидия в этом анализе, также могли наблюдать живые (PI отрицательные) и мертвые (PI положительные) клетки. Интересно, что, поскольку и SDS, и SOV4 вызывали значительную гибель клеток, включение PI-положительных клеток показало пик ниже 1С в распределении, что указывает на утечку гистонов. Интересно, что для других соединений (ионофоров меди и тиазолинов), где наблюдался пик перед 1С, удаление мертвых клеток из анализа не убрало пик. Таким образом, ионофоры меди и микозидин могут вызывать снижение количества гистонов, что может быть связано с деградацией ДНК в клетках, непроницаемых для йодида пропидия. Это часто интерпретируется как признак апоптозоподобной смерти [202].

ГЛАВА V. ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ И ТРАДИЦИОННЫХ ПОЛИЕНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Полиеновые антифунгальные препараты имеют общую полиеновую основу с множественными сопряженными двойными связями, имеющими решающее значение для их противогрибкового действия за счет их связывания с эргостеролом в мембранах грибов. Несмотря на эту общность, существуют вариации в боковых цепях или заместителях, прикрепленных к полиеновой основе. Например, амфотерицин В содержит боковую цепь микозаминового сахара, в то время как нистатин имеет аналогичную структуру, отличающуюся расположением полиенового каркаса и количеством двойных связей. У натамицина отсутствует боковая цепь микозамина, а вместо этого имеется боковая цепь дисахарида [41] (см. приложение). Эти структурные различия влияют на такие свойства, как растворимость, токсичность и активность в отношении различных видов грибов. Кроме того, модификации структуры полиена, такие как введение амидных групп, могут привести к получению производных с измененными фармакологическими свойствами [203].

А.Н. Тевяшова и ее коллеги из Института новых антибиотиков им. Гаузе разработали новую серию полиенов путем амидирования карбоновой группы. Это простая модификация, которая может улучшать растворимость препарата, в т.ч. и полиенов [204]. Эти производные (таблица 1 в приложении) включают: диацетат N-(2-аминоэтил)амида амфотерицин (LCTA3114), диацетат N-((2-(2-фторфенил-1-метил)амино)этил) амид амфотерицин (LCTA3283), диацетат N-(2-(N',N'-диметил)аминоэтил)амида амфотерицин (LCTA3315), диацетат N-(2-аминоэтил)амида нистатин (LCTA3255), диацетат N-(2-(N',N'-диметил)аминоэтил)амид нистатин (LCATA3317), диацетат N-((2-(2-фторфенил-1-метил)амино)этил)амид нистатин (LCTA3285), диацетат N-(2-аминоэтил)амида натамицин (LCTA3115) и , дихлорид N-((1-тетрадецилпиридин-1-ил-3-ил)метил)- амид натамицин (LCTA3282).

Цель исследования состояла в том, чтобы оценить повышенную растворимость в воде этих вновь синтезированных амидных производных полиенов и изучить их антифунгальные свойства против мутантов дрожжей *S.cerevisiae*, которые несут целевые делеции генов в пути биосинтеза эргостерола. Кроме того, стремились исследовать фунгицидное и фунгистатическое действие натамицина и его недавно синтезированных производных на дрожжевые клетки. Это связано с тем, что натамицин находит широкое применение в пищевой, фармацевтической и сельскохозяйственной промышленности и отличается от других полиенов своей неспособностью пермеабиллизировать мембраны *in vitro*, а также, по литературным данным, *in vivo* [33].

5.1 Улучшенная растворимость новых производных полиеновых антифунгальных препаратов

Была изучена растворимость в воде синтезированных производных полиенов. После предварительной оценки были проведены количественные эксперименты по определению их растворимости с помощью УФ-спектроскопии стандартных и насыщенных растворов. Данные калибровочной кривой, представленные на рисунке 28, продемонстрировали линейность.

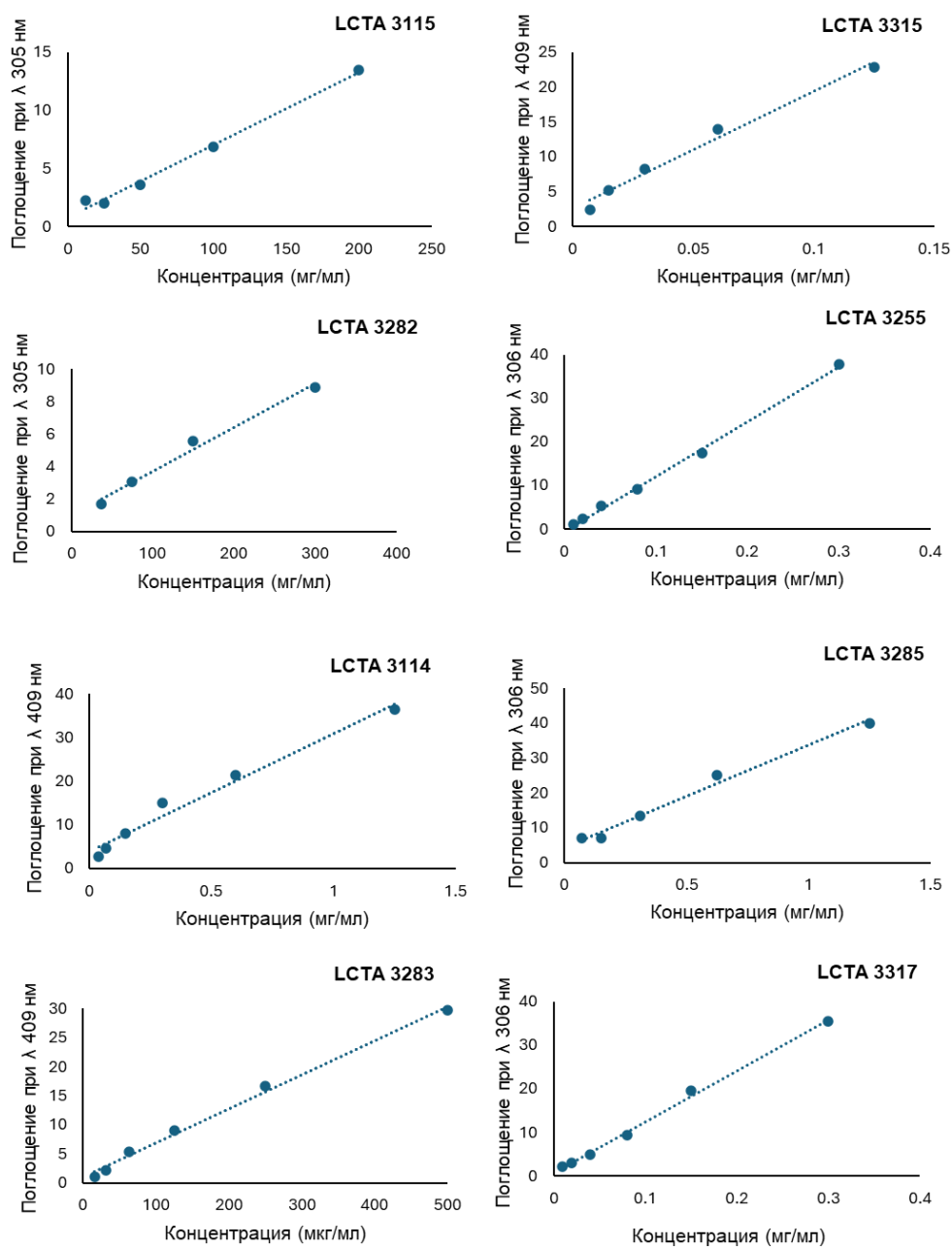


Рисунок 28 – Калибровочные кривые по данным УФ-спектрофотометрии, полученные при различных концентрациях лекарственных средств.

Впоследствии растворимость испытуемых производных полиена определяли с помощью этих градуировочных кривых. Максимальные значения растворимости рассчитывали измеряя концентрацию вещества в надосадочной жидкости насыщенных растворов. Как показано в таблице 16, все вновь синтезированные производные продемонстрировали значительно улучшенную растворимость по сравнению с исходными соединениями.

Таблица 16 - Растворимость амидов полиенов.

Полиеновые антифунгальные препараты	Максимальные значения растворимости воде(г/л)	Вновь синтезированные производные	Максимальные значения растворимости воде(г/л)
Натамицин	0,06	LCTA 3115	>100
		LCTA3282	0.9
Нистатин	0,36	LCTA 3317	100
		LCTA 3255	100
		LCTA 3285	100
Амфотерицин	0,75	LCTA 3114	100
		LCTA 3315	20
		LCTA 3283	3

5.2 Определение чувствительность штаммов дрожжей с нелетальными нарушениями биосинтеза эргостерола к модифицированным полиенам

В литературе описано, что несколько мутаций в пути синтеза эргостерола индуцируют как резистентность, так и чувствительность к полиеновым антифунгальным агентам. Было решено исследовать, могут ли новые производные быть более эффективными против резистентных мутантов дрожжей *S. cerevisiae*, содержащих специфические делеции генов на последних этапах пути биосинтеза эргостерола. Чувствительность к препарату анализировали у пяти мутантов с делециями генов ERG ($\Delta erg6$, $\Delta erg2$, $\Delta erg3$, $\Delta erg5$ и $\Delta erg4$) на фоне мутанта дикого типа BY4742.

Значения, приведенные в таблице 17, указывают на изменение значения МИК для этого мутанта по сравнению с МИК для мутанта дикого типа. Как показано, удаление гена *ERG6* приводит к увеличению относительной

устойчивости к протестированным полиенам и их производным, за исключением производного натамицина LCTA3115. Среди протестированных полиенов нистатин показал наибольшее увеличение относительной устойчивости. Делеция *ERG3* вызывала резистентность дрожжей к нистатину и его производным, а также, но в меньшей степени, к натамицину и его производным. При этом резистентность не изменялось в зависимости от внесенных модификаций. Однако для амфотерицина и его производных ситуация оказалась более сложной. Делеция *ERG3* мало влияла на резистентность к амфотерицину и его производному LCTA3114, но вызывала некоторую резистентность к LCTA3283 и тем более к LCTA3315.

Наконец, наиболее сильное повышение чувствительности к полиену наблюдалось для штамма с делецией *ERG4* в ответ на действие амфотерицина и на производное нистатина LCTA 3255, но было слабым для других исследованных полиенов.

Таблица 17 - Соотношение МИК мутанта и МИК штамма дикого типа изучаемых антимикотиков при воздействии на штаммы с мутациями в пути синтеза эргостерола.

штаммы*	Амфотерицин	LCTA3114	LCTA3283	LCTA3315	Нистатин	LCTA3255	LCTA3285	LCTA3317	Натамицин	LCTA3115
<i>Δerg6</i>	3	4	4	7.3	14	6	8	7	2	1
<i>Δerg2</i>	1	0.7	1.3	1.7	1	0.8	0.8	1.6	1	0.6
<i>Δerg3</i>	0.8	0.8	2	2.7	3.5	4	4.5	3.5	2	2
<i>Δerg5</i>	0.8	0.8	1	0.7	2	1	2	1.8	1	0.6
<i>Δerg4</i>	0.4	0.8	0.8	0.6	0.9	0.2	1	0.6	0.6	0.6

*Каждый эксперимент повторялся не менее трех раз. В таблице приведено среднее значение. Красный цвет обозначает повышенную резистентность, зеленый - повышенную восприимчивость.

5.3 Изучение влияния натамицина и его новых полусинтетических производных амидов на клеточное деление различных штаммов *S. cerevisiae*.

5.3.1 Выживаемость/ингибирование роста

Противогрибковая активность полусинтетических амидов натамицина LCTA3115 и LCTA3282 была исследована в сравнении с эталонным *S. cerevisiae* BY4741 путем микроразведений для определения МИК. Соединение LCTA3282 показало такой же МИК, как и натамицин (3,1 мкг/мл), тогда как LCTA3115 продемонстрировало значение МИК 0,4 мкг/мл (рисунок 29).

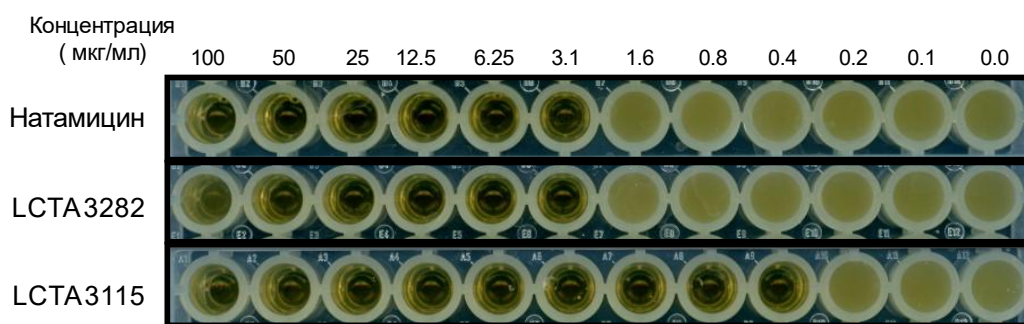


Рисунок 29 – Определение МИК натамицина и его производных для штамма *S. cerevisiae* BY4741 дикого типа.

Чтобы дополнительно охарактеризовать различия между натамицином и его производными, клетки *S. cerevisiae* BY4741 подвергали воздействию натамицином, LCTA3115 и LCTA3282 в течение заданной продолжительности времени (1 час, 4 часа и 24 часа) как в водном растворе, так и в жидкой среде YPD. Последнее было сделано для сравнения влияния соединений на делящиеся и неделящиеся клетки. Затем дрожжевые клетки были нанесены на твердую питательную среду YPD для полуколичественной оценки количества выживших клеток после обработки различными химическими веществами. Полученные данные показали, что в условиях использования водного раствора натамицин практически не обладает фунгицидным действием даже при высоких концентрациях, а производные натамицина LCTA3115 и LCTA3282 обладают фунгицидным действием (рисунок 30А). Примечательно, что для

LCTA3282 этот эффект был гораздо сильнее. Интересно, что, когда дрожжевые клетки были обработаны тестируемыми соединениями в жидкой среде YPD вместо воды (рисунок 30Б), проявилась заметная и необычная тенденция. После 4 часов инкубации с антимикотиками при концентрации равной 1х МИК как натамицин, так и его производное LCTA3115 вызывали уменьшение количества колоний, хотя этот эффект не наблюдался при более высоких концентрациях. Аналогичным образом, после 24 часов инкубации натамицин продемонстрировал уменьшение количества колоний при его концентрациях равных 1х МИК и 2х МИК, но не при более высоких концентрациях, в то время как LCTA3115 продемонстрировал уменьшение количества колоний при концентрациях равных 2х МИК и 4х МИК. Примечательно, что производное натамицина LCTA3282 показало фунгицидный эффект уже после 1 часа инкубации с дрожжевыми клетками при концентрации равной 8-кратной МИК. Эти данные указывали на то, что гибель клеток под действием натамицина и его производного может зависеть от того, происходит или нет клеточное деление.

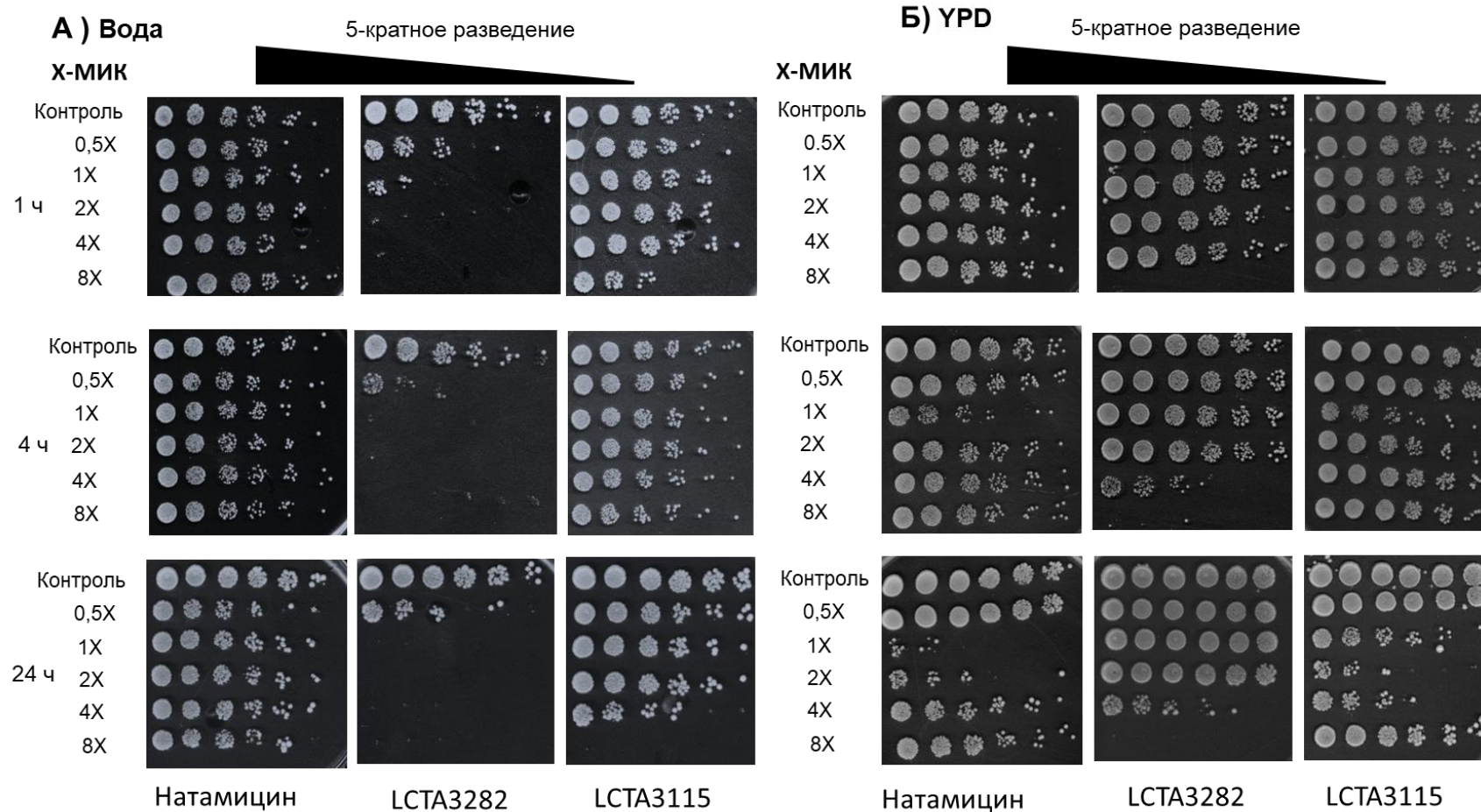


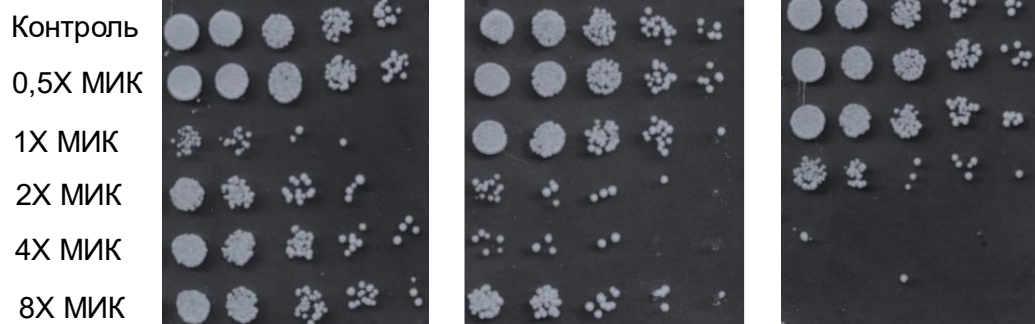
Рисунок 30 – Натамицин и его производное LCTA3115 не имеют сильного фунгицидного эффекта при обработке в воде, и имеют необычный фунгицидный эффект при концентрации близкой к МИК. Клетки подвергали обработке этими соединениями в течение определенного периода времени в А) водном растворе Б) в растворе YPD, а затем наносили на твердую питательную среду YPD для полуколичественной оценки количества выживших колоний (колоний образующих единиц - КОЕ).

5.3.2 Исследование индуцированной натамицином гибели клеток и ее связи с ингибированием клеточного деления

Предварительные данные показали, что смерть, индуцированная натамицином, связана со способностью клеток делиться. Поэтому было решено определить, можно ли свести на нет индуцированную натамицином гибель клеток, остановив деление клеток гидроксимочевинной. Предварительно инкубировали дрожжевые клетки с гидроксимочевинной в течение 2 часов, чтобы остановить их на стадии деления S1, после чего клетки обрабатывали различными концентрациям натамицина и LСТА3115. Полученные результаты показали, что повышенная скорость гибели клеток при концентрациях, близких к МИК, не наблюдалась (рисунок 31Б). Тем не менее, при отсутствии предварительной обработки гидроксимочевинной, после 24 часов воздействия изучаемым препаратом, количество колоний уменьшалось при обработке натамицином при концентрации равной 1х МИК и LСТА3115 при концентрациях равных 2х МИК и 4х МИК, но не при более высоких. Примечательно, что при применении амфотерицина такой эффект не наблюдался (рисунок 31А). Из полученных результатов можно сделать вывод, что индуцированная натамицином гибель клеток происходит только в процессе деления клеток.

5-кратное разведение

А) Без обработки гидроксимочевинной



Б) С предварительной обработкой гидроксимочевинной

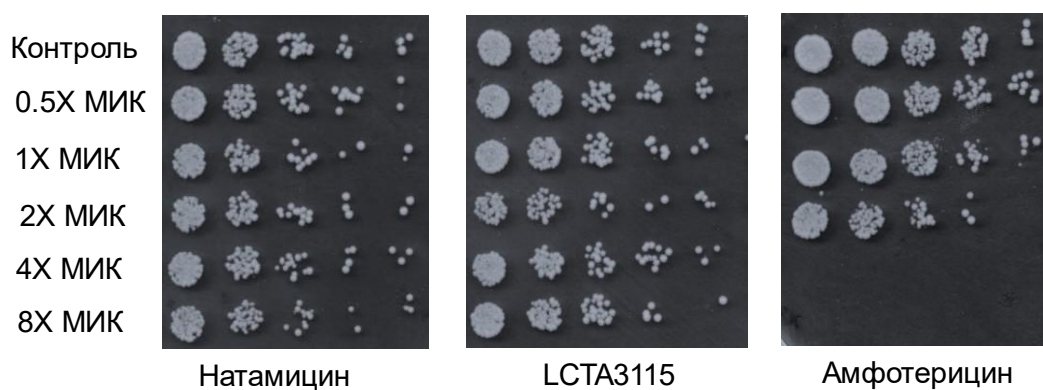


Рисунок 31 - Блокирование клеточного цикла при помощи гидроксимочевинной блокирует гибель клеток вызванную натамицином и LCTA3115, но не амфотерицином. Дрожжевые клетки обрабатывали гидроксимочевинной (250 мкМ) в течение 2 часов затем к ним добавляли тестируемые соединения в различной концентрации и инкубировали в течение 24 часов. А) дрожжевые клетки не подвергали предварительной обработке гидроксимочевинной Б) дрожжевые клетки предварительно обрабатывали гидроксимочевинной. Амфотерицин В (AmpB) использовали в качестве вещества с классическим фунгицидным эффектом.

5.4 Обсуждение по главе V

Исследование показало, что все изученные синтезированные амиды нистатина имеют значительно более высокую растворимость в воде (100 г/л) по сравнению с растворимостью исходного антибиотика-нистатина (0,36 г/л) [205]. Новые амидные производные амфотерицина и натамицина также продемонстрировали повышенную растворимость в воде, особенно антимикотики с короткими алифатическими диаминами (2–4 алкильные цепи), по сравнению с производными с липофильными группами. Их растворимость была 3–100 г/л для производных амфотерицина (растворимость амфотерицина 0,75 г/л [206]) и 0,9– ≥ 100 г/л для производных натамицина (растворимость натамицина 0,06 г/л).

Путь биосинтеза эргостерола включает девять не-жизненно важных генов: *HMG1*, *HMG2*, *ERG2*, *ERG3*, *ERG4*, *ERG5*, *ERG6*, *ERG24* и *ERG28* [207]. Использовали мутанты *S. cerevisiae* с делециями генов, участвующих в конечных стадиях биосинтеза эргостерола. У этих мутантов отсутствует эргостерол, но они синтезируют его различные предшественники, поддерживая жизнеспособность клеток. При этом, чувствительность таких мутантов к полиенам изменяется. Различия в механизмах восприимчивости этих мутантов привели нас к предположению, что различные синтезированные антимикотики проявляют уникальное сродство к различным предшественникам эргостерола.

Результаты подтвердили, что мутанты $\Delta erg3$ и $\Delta erg6$ наиболее устойчивы к классическим полиенам, и показали что похожие устойчивости наблюдаются и к их производным. Эти результаты согласуются с исследованием, проведенным [208], которое продемонстрировало, что $\Delta erg3$ и $\Delta erg6$ проявляют устойчивость к амфотерицину и нистатину. Эти эффекты могут быть связаны с изменениями плазматически-мембранного потенциала клеток [209] или, возможно, с снижением сродства этих препаратов к

зимостерину и эпистерину соответственно, которые накапливаются в этих мутантах [208].

Данные показывают, что как пермеабилизирующие полиены (амфотерицин и нистатин), так и непермеабилизирующие полиены (натамицин) демонстрируют различные профили чувствительности у мутантов эргостерола (*erg*). Например, уменьшение устойчивости мутанта *Δerg6* к натамицину и его производному LСТА 3115 свидетельствует о различном сродстве этих соединений к предшественникам эргостерола. Эти данные предполагают, что непермеабилизирующие полиены могут нацеливаться на другие мембранные структуры, затронутые промежуточными продуктами эргостерола, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований механизмов их связывания и влияния на целостность мембраны. В ходе исследования было обнаружено новое явление противогрибковой активности натамицина и его производного LСТА 3115, которое не было описано ранее. Было продемонстрировано, что неделящиеся клетки (либо из-за недостатка питательных веществ, либо из-за блокировки прогрессии клеточного цикла) не восприимчивы к их действию. С одной стороны, насколько нам известно, такое явление не является обычным для антимикробных препаратов, поскольку большинство лекарств демонстрируют дозозависимую кривую клеточной гибели. С другой стороны, противоопухолевые препараты специально разработаны таким образом, чтобы быть токсичными для делящихся клеток и иметь меньшую токсичность по отношению к неделящимся клеткам, поэтому такое свойство веществ, вызывающих клеточную гибель, в целом не является уникальным. Хотя это явление нуждается в дополнительном изучении для полного понимания его механизма, можно предположить, что низкие концентрации натамицина вызывают некоторые катастрофические эффекты в делящихся клетках, в то время как более высокие концентрации блокируют деление клеток, изменяя общую физиологию клеток и снижая вероятность их гибели. Возможно

прохождение клеточного цикла имеет некоторые специфические требования к мембранам, богатым эргостеролом, и оно нарушается, если эргостерол блокируется взаимодействием с натамицином. Такое предположение вполне обосновано, поскольку известно, что эргостерол содержится в повышенного количестве в области образования почки при делении почкующихся дрожжей, образовании перетяжки для деления *Schizosaccharomyces pombe* и в кончике гифа мицелиальных грибов [210]. Другое предположение, основанное на недавно опубликованной работе было показано, что небольшие агрегаты натамицина изначально образуются в плазматической мембране дрожжей. Это приводит к обширной деформации мембраны, отрыву от клеточной стенки и высвобождению внеклеточных везикул [211]. Образование таких внеклеточных везикул может представлять собой первую линию защиты, чтобы избавиться от молекул лекарств, как это было показано на *C. neoformans* при обработке азолами [212].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекции, вызванные грибами, приводят к гибели до 1,5 миллиона человек ежегодно. Однако разнообразие доступных антифунгальных препаратов ограничено несколькими классами соединений. Кроме того, многие существующие антифунгальные средства сталкиваются с резистентностью к ним со стороны патогенов. Поэтому исследования, направленные на открытие новых видов антифунгальных препаратов и изучение их характеристик, имеют первостепенное значение. Важным этапом разработки любого активного лекарственного средства, в том числе противогрибкового, является исследование механизма его действия, поскольку в современных условиях это необходимо для применения такого вещества в клинической практике, а также для того, чтобы можно было осознанно модифицировать дизайн исходного активного вещества.

В работе был разработан быстрый и эффективный подход к анализу реакции клеток грибов на различные антимикотики. Для этой цели были выбраны дрожжи *S. cerevisiae* в связи с их непатогенной природой и наличием в лаборатории коллекций генетически модифицированных штаммов этих дрожжей, которые подходят для таких анализов. Была создана панель штаммов дрожжей, в которой гены, кодирующие 64 белка, были модифицированы путем добавления последовательности зеленого флуоресцентного белка (GFP). Эти белки участвуют в биосинтезе и катаболизме аминокислот, репарации ДНК, углеводном обмене, биосинтезе липидов, ответе на окислительный стресс и активации путей, связанных с термотолерантностью и покоем. Любые изменения уровня этих белков, обусловленные активностью важных клеточных систем, можно наблюдать с помощью проточной цитометрии. Полученные данные показали, что большинство исследованных веществ, принадлежащих к разным классам, имеют достаточно четко различимые профили воздействия на клетки дрожжей, в то время как вещества со сходным механизмом действия имеют

сходный профиль тепловой карты клеточного ответа (например, пары вориконазол и флуконазол; 11326083 и пиритион; три вещества SOV4, SOV4 и Ala54). Полученные данные позволили получить новую информацию о механизмах действия ряда веществ с неизвестными механизмами, для которых заранее была продемонстрирована активность против различных групп патогенных грибов. В частности, были получены сведения об индукции белков биосинтеза аминокислот и защита от окислительного стресса алкилированными нуклеозидами, а также о роли транспорта глюкозы и биосинтеза липидов в антимикотической активности тиазолидиновых антимикотиков.

Кроме того, SCRAPPY метод позволил легко провести сравнительный анализ механизмов действия классических азольных соединений (вориконазола, флуконазола), тиазолидиновых антимикотиков и нового гибридного препарата L-173, который сочетает в себе тиазолидин-2,4-дион и триазол.

Благодаря использованию проточной цитометрии, которая в методике позволяет исследовать изменения уровня белков в индивидуальных клетках, было изучено влияние всех протестированных соединений на клеточный цикл с помощью количественной оценки содержания в клетках меченого гистона Htb2-GFP. Как и ожидалось, несмотря на то, что все протестированные соединения остановили деление клеток, способ, которым они это сделали, не идентичен. Например, азолы не изменяли распределение количества гистонов, в то время как SOV4, тиазолидины (микозидин и 3Мус) и соединения ионофоров меди (MP и соединение 11326083) вызывали клеточную остановку с количеством гистонов, соответствующим пику ДНК 1С. Насколько нам известно, это первое сообщение о такой активности ионофоров меди. С другой стороны, 5-FC, туникамицин и SDS вызывали накопление клеток в популяции клеток с в пике ДНК 2С.

Другое важное наблюдение, которое связано с возможностью детектировать изменения уровня белков в индивидуальных клетках, было сделано при исследовании влияния микозидина на клетки дрожжей. В контрольных клетках (без обработки микозидина) митохондрии представляли собой единые длинные нитевидные структуры, а после обработки клеток препаратами, в случае обоих белков наблюдалось явное изменение морфологии митохондрий, а также гетерогенные изменения количества белка. Это полностью подтверждает данные, полученные методом проточной цитометрии.

В работе также был изучен ряд классических полиеновых антимикотиков и их производные с повышенной растворимостью в воде. Были исследованы антифунгальные свойства соединений на мутантах дрожжей, у которых отсутствуют ключевые гены в пути биосинтеза эргостерола (*Δerg6*, *Δerg2*, *Δerg3*, *Δerg5* и *Δerg4*). Протестированные соединения продемонстрировали различную резистентность и чувствительность среди мутантов. Оказалось что делеция гена *ERG6* заметно сильнее повышала устойчивость к производным полиена по сравнению с их исходными соединениями, делеция *ERG4* заметно повышала чувствительность к производным амфотерицина и нистатина LCTA 3255, но в меньшей степени к другим производным полиена. Кроме того, в ходе всестороннего исследования фунгицидного и фунгистатического действия натамицина и его недавно синтезированных производных была обнаружена фунгицидная активность натамицина и его производного LCTA 3115 при концентрации, близкой к МИК, причем такой фунгицидный эффект исчезал при остановке клеточного цикла путем удаления питательной среды или добавления гидроксимочевины. Такой тип клеточной гибели не характерен для других полиенов и не был описан ранее.

ВЫВОДЫ

1. Создана коллекция штаммов, *S. cerevisiae*, продуцирующих белки, конъюгированные с GFP. Коллекция штаммов стала основой нового метода - SCRAPPY (Single Cell Rapid Assay of Proteome Perturbation in Yeast), позволяющего определить изменения протеома на уровне отдельных дрожжевых клеток. Метод SCRAPPY позволяет анализировать изменения в количестве конъюгированных с GFP белков клеток *S. cerevisiae*, под воздействием различных антимикотиков.
2. Разработан новый метод анализ клеточного цикла клеток *S. cerevisiae* при мониторинге флуоресцентного сигнала GFP слитого с гистонем Htb2. Этот подход расширяет возможности выявления нарушений клеточного цикла при воздействии антимикотиков.
3. Исследованные алкилированные нуклеозиды вызывают увеличение уровня белков связанных с метаболизмом аминокислот, а также окислительный стресс.
4. Микозидин, 3,5-замещенное производное тиазолидин-2,4-диона, вызывает специфическое повышение уровня транспортера глюкозы Hxt3. Делеция гена, кодирующего этот транспортер, повышает чувствительность клеток к микозидину. Показана важная роль Hxt3 в защите клеток от последствий воздействия на них микозидина.
5. Ответ клеток на новое гибридное соединение L173, состоящее из азольной и тиазолидиновой части, сходен с ответом на азольные, но не тиазолидиновые антимикотики (микозидин), что указывает на то, что активной является только его азольная часть.
6. Исследованные в работе новые амиды полиенов различаются по действию на разные мутанты с нарушением пути биосинтеза эргостерола, что может быть обусловлено разным сродством к определенным предшественникам эргостерола.
7. Гибель клеток под действием натамицина и его производного LCTA3115 происходит только при концентрации, близкой к МИК. Это означает, что

в высоких концентрациях натамицин обладает фунгистатическим действием, а его фунгицидный эффект проявляется при более низких концентрациях, когда клетки способны делиться.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АТФ — Аденозинтрифосфорная кислота

АФК — Активные формы кислорода

ДНК — Дезоксирибонуклеиновая кислота

КОЕ — колониеобразующая единица

МИК — минимальная ингибирующая концентрация

МС — масс-спектрометрия

НАД — Никотинамидадениндинуклеотид

РНК — рибонуклеиновая кислота

СПИД — Синдром приобретённого иммунного дефицита

УФ — Ультрафиолетовое излучение

ЭПР — Эндоплазматический ретикулум

COVID-19 — коронавирусная болезнь 2019

CYP51 — Цитохром P450

DMSO, ДМСО — Dimethyl sulfoxide (диметилсульфоксид)

FDA — Food and Drug Administration (Министерство здравоохранения и социальных служб США)

FITC — Fluorescein Isothiocyanate (флуоресцеин изотиоцианат)

FSC — Forward Scatter (Вперед рассеяния)

GFP — Зелёный флуоресцентный белок (green fluorescent protein, **ЗФБ**)

O.D — Optical density

PE — PhycoErythrin (Фикоэритрин)

PI — Propidium iodide (йодид пропидия)

SDS — Sodium dodecyl sulfate (лаурилсульфат натрия)

YPD — yeast extract peptone dextrose (дрожжевой экстракт пептон декстроза)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. El-Baky, N.A. and A.A.A.F. Amara, *Recent approaches towards control of fungal diseases in plants: An updated review*. Journal of Fungi, 2021. **7**(11): p. 900.
2. Velasco, L., et al., *A novel hypovirus species from Xylariaceae fungi infecting avocado*. Frontiers in Microbiology, 2018. **9**: p. 778.
3. Fisher, M.C., et al., *Threats Posed by the Fungal Kingdom to Humans, Wildlife, and Agriculture*. mBio, 2020. **11**(3): p. 10.1128/mbio.00449-20.
4. Bongomin, F., et al., *Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision*. Journal of fungi, 2017. **3**(4): p. 57.
5. Brown, G.D., et al., *Hidden killers: human fungal infections*. Science translational medicine, 2012. **4**(165): p. 165rv13-165rv13.
6. Fisher, M.C., et al., *Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security*. Science, 2018. **360**(6390): p. 739-742.
7. Lee, A.Y., et al., *Mapping the cellular response to small molecules using chemogenomic fitness signatures*. Science, 2014. **344**(6180): p. 208-211.
8. Yaakov, G., et al., *Coupling phenotypic persistence to DNA damage increases genetic diversity in severe stress*. Nature ecology & evolution, 2017. **1**(1): p. 0016.
9. Ramage, G., et al., *Our current clinical understanding of Candida biofilms: where are we two decades on?* APMIS, 2023. **131**(11): p. 636-653.
10. Harrison, J.J., H. Ceri, and R.J. Turner, *Multimetal resistance and tolerance in microbial biofilms*. Nature Reviews Microbiology, 2007. **5**(12): p. 928-938.
11. Winzeler, E.A., et al., *Functional characterization of the S. cerevisiae genome by gene deletion and parallel analysis*. science, 1999. **285**(5429): p. 901-906.
12. Agarwal, A.K., et al., *Genome-wide expression profiling of the response to polyene, pyrimidine, azole, and echinocandin antifungal agents in Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(37): p. 34998-35015.
13. Anderson, J.B., et al., *Mode of selection and experimental evolution of antifungal drug resistance in Saccharomyces cerevisiae*. Genetics, 2003. **163**(4): p. 1287-1298.
14. Newman, J.R., et al., *Single-cell proteomic analysis of S. cerevisiae reveals the architecture of biological noise*. Nature, 2006. **441**(7095): p. 840-846.
15. Yang, J., et al., *Systematic analysis of asymmetric partitioning of yeast proteome between mother and daughter cells reveals “aging factors” and mechanism of lifespan asymmetry*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015. **112**(38): p. 11977-11982.
16. Egorov, A.A., et al., *A standard knockout procedure alters expression of adjacent loci at the translational level*. Nucleic Acids Research, 2021. **49**(19): p. 11134-11144.
17. Huh, W.-K., et al., *Global analysis of protein localization in budding yeast*. Nature, 2003. **425**(6959): p. 686-691.
18. Soste, M., et al., *A sentinel protein assay for simultaneously quantifying cellular processes*. Nature methods, 2014. **11**(10): p. 1045-1048.
19. Sun, S., M.J. Hoy, and J. Heitman, *Fungal pathogens*. Current Biology, 2020. **30**(19): p. R1163-R1169.
20. Sexton, A.C. and B.J. Howlett, *Parallels in fungal pathogenesis on plant and animal hosts*. Eukaryotic cell, 2006. **5**(12): p. 1941-1949.
21. Adhikary, S., et al., *Fusarium Wilt of Banana: Challenges and Resilience*. OnLine Journal of Biological Sciences, 2024.
22. Ribes, S., et al., *Prevention of fungal spoilage in food products using natural compounds: a review*. Critical reviews in food science and nutrition, 2018. **58**(12): p. 2002-2016.
23. Fisher, M.C. and T.W. Garner, *Chytrid fungi and global amphibian declines*. Nature Reviews Microbiology, 2020. **18**(6): p. 332-343.

24. Gnat, S., D. Łagowski, and A. Nowakiewicz, *Major challenges and perspectives in the diagnostics and treatment of dermatophyte infections*. Journal of applied microbiology, 2020. **129**(2): p. 212-232.
25. Sullivan, D.J., G.P. Moran, and D.C. Coleman, *Fungal Infections of Humans*. Fungi: Biology and Applications, 2017: p. 251-273.
26. Veasey, J.V., et al., *White piedra, black piedra, tinea versicolor, and tinea nigra: contribution to the diagnosis of superficial mycosis*. Anais brasileiros de dermatologia, 2017. **92**: p. 413-416.
27. Carrasco-Zuber, J., et al., *Afectación cutánea en las micosis profundas: una revisión de la literatura. Parte 1: micosis subcutáneas*. Actas Dermo-Sifiliográficas, 2016. **107**(10): p. 806-815.
28. Воронцова, А. and А. Карамова, *Комбинированная терапия больных грибковым микозом*. Vestnik Dermatologii i Venerologii, 2022. **98**(6): p. 55-64.
29. Szalka, A. and G. Prinz, *Opportunistic systemic mycoses*. Orvosi hetilap, 1991. **132**(34): p. 1851-6, 1859.
30. Wall, G. and J.L. Lopez-Ribot, *Current antimycotics, new prospects, and future approaches to antifungal therapy*. Antibiotics, 2020. **9**(8): p. 445.
31. Robbins, N., G.D. Wright, and L.E. Cowen, *Antifungal drugs: the current armamentarium and development of new agents*. Microbiology spectrum, 2016. **4**(5): p. 10.1128/microbiolspec.funk-0002-2016.
32. Tevyashova, A., et al., *Semisynthetic amides of amphotericin B and nystatin A1: A comparative study of in vitro activity/toxicity ratio in relation to selectivity to ergosterol membranes*. Antibiotics, 2023. **12**(1): p. 151.
33. Te Welscher, Y.M., et al., *Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane*. Journal of Biological Chemistry, 2008. **283**(10): p. 6393-6401.
34. Georgopapadakou, N.H. and T.J. Walsh, *Human mycoses: drugs and targets for emerging pathogens*. Science, 1994. **264**(5157): p. 371-373.
35. Zotchev, S.B., *Polyene macrolide antibiotics and their applications in human therapy*. Current medicinal chemistry, 2003. **10**(3): p. 211-223.
36. Chandrasekar, P., *Management of invasive fungal infections: a role for polyenes*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011. **66**(3): p. 457-465.
37. Mesa-Arango, A.C., L. Scorzoni, and O. Zaragoza, *It only takes one to do many jobs: Amphotericin B as antifungal and immunomodulatory drug*. Frontiers in microbiology, 2012. **3**: p. 286.
38. Kristanc, L., et al., *The pore-forming action of polyenes: From model membranes to living organisms*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 2019. **1861**(2): p. 418-430.
39. Carolus, H., et al., *Amphotericin B and other polyenes—Discovery, clinical use, mode of action and drug resistance*. Journal of Fungi, 2020. **6**(4): p. 321.
40. WHO, *WHO model list of essential medicines—22nd list*. 2021, World Health Organization Geneva.
41. Малова, И. and Д. Петрунин, *Натамицин-противогрибковое средство класса полиеновых макролидов с необычными свойствами*. Вестник дерматологии и венерологии, 2015(3): p. 161-184.
42. Meena, M., et al., *Natamycin: a natural preservative for food applications—a review*. Food Science and Biotechnology, 2021: p. 1-16.
43. van Gorcom, R.F., C.A. van den Hondel, and P.J. Punt, *Cytochrome P450 enzyme systems in fungi*. Fungal Genetics and Biology, 1998. **23**(1): p. 1-17.
44. Sagatova, A., *Investigating resistance mutations in the drug target of triazole drugs*. 2016, University of Otago.

45. Sanglard, D., et al., *Multiple resistance mechanisms to azole antifungals in yeast clinical isolates*. Drug Resistance Updates, 1998. **1**(4): p. 255-265.
46. García-García, I. and A.M. Borobia, *Current approaches and future strategies for the implementation of pharmacogenomics in the clinical use of azole antifungal drugs*. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 2021. **17**(5): p. 509-514.
47. Ostrosky-Zeichner, L., et al., *An insight into the antifungal pipeline: selected new molecules and beyond*. Nature reviews Drug discovery, 2010. **9**(9): p. 719-727.
48. Miceli, M.H. and C.A. Kauffman, *Isavuconazole: a new broad-spectrum triazole antifungal agent*. Clinical Infectious Diseases, 2015. **61**(10): p. 1558-1565.
49. Ni, T., et al., *Design, synthesis, and evaluation of novel tetrazoles featuring isoxazole moiety as highly selective antifungal agents*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2023. **246**: p. 115007.
50. Chen, S.C.-A., M.A. Slavin, and T.C. Sorrell, *Echinocandin antifungal drugs in fungal infections: a comparison*. Drugs, 2011. **71**: p. 11-41.
51. Sucher, A.J., E.B. Chahine, and H.E. Balcer, *Echinocandins: the newest class of antifungals*. Annals of Pharmacotherapy, 2009. **43**(10): p. 1647-1657.
52. Pontón, J., *La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina*. Revista Iberoamericana de Micología, 2008. **25**(2): p. 78-82.
53. Seyedmousavi, S., et al., *Systemic antifungal agents: current status and projected future developments*. Human Fungal Pathogen Identification: Methods and Protocols, 2017: p. 107-139.
54. Tassel, D. and M.A. Madoff, *Treatment of Candida sepsis and Cryptococcus meningitis with 5-fluorocytosine: a new antifungal agent*. Jama, 1968. **206**(4): p. 830-832.
55. Edlind, T.D. and S.K. Katiyar, *Mutational analysis of flucytosine resistance in Candida glabrata*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2010. **54**(11): p. 4733-4738.
56. Heidelberger, C., P.V. Danenberg, and R.G. Moran, *Fluorinated pyrimidines and their nucleosides*. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol, 1983. **54**: p. 58-119.
57. Gsaller, F., et al., *Mechanistic basis of pH-dependent 5-flucytosine resistance in Aspergillus fumigatus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2018. **62**(6): p. 10.1128/aac. 02593-17.
58. Viviani, M., *Flucytosine--what is its future?* JAntimicrob Chemother, 35 (2), 241-244. 1995.
59. Vermes, A., H.-J. Guchelaar, and J. Dankert, *Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2000. **46**(2): p. 171-179.
60. Barnes, K.N., A.M. Yancey, and A.B. Forinash, *Ibrexafungerp in the treatment of vulvovaginal candidiasis*. Annals of Pharmacotherapy, 2023. **57**(1): p. 99-106.
61. Ghannoum, M., et al., *Ibrexafungerp: a novel oral triterpenoid antifungal in development for the treatment of Candida auris infections*. Antibiotics, 2020. **9**(9): p. 539.
62. Azie, N., et al., *Oral Ibrexafungerp: an investigational agent for the treatment of vulvovaginal candidiasis*. Expert Opinion on Investigational Drugs, 2020. **29**(9): p. 893-900.
63. Hokken, M.W., et al., *Facilitators of adaptation and antifungal resistance mechanisms in clinically relevant fungi*. Fungal genetics and Biology, 2019. **132**: p. 103254.
64. Ramage, G., et al., *Fungal biofilm resistance*. International journal of microbiology, 2012. **2012**.
65. Kireeva, N., et al., *Adaptive role of cell death in yeast communities stressed with macrolide antifungals*. Msphere, 2021. **6**(6): p. e00745-21.
66. Fanning, S. and A.P. Mitchell, *Fungal biofilms*. PLoS pathogens, 2012. **8**(4): p. e1002585.
67. Prasad, R., et al., *Molecular cloning and characterization of a novel gene of Candida albicans, CDR1, conferring multiple resistance to drugs and antifungals*. Current genetics, 1995. **27**: p. 320-329.

68. Sanglard, D., et al., *Cloning of Candida albicans genes conferring resistance to azole antifungal agents: characterization of CDR2, a new multidrug ABC transporter gene*. Microbiology, 1997. **143**(2): p. 405-416.
69. Ben-Yaacov, R., et al., *Candida albicans gene encoding resistance to benomyl and methotrexate is a multidrug resistance gene*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1994. **38**(4): p. 648-652.
70. Perlin, M.H., J. Andrews, and S. San Toh, *Essential letters in the fungal alphabet: ABC and MFS transporters and their roles in survival and pathogenicity*. Advances in genetics, 2014. **85**: p. 201-253.
71. Prasad, R., A. Banerjee, and A.H. Shah, *Resistance to antifungal therapies*. Essays in biochemistry, 2017. **61**(1): p. 157-166.
72. Cannon, R.D., et al., *Efflux-mediated antifungal drug resistance*. Clinical microbiology reviews, 2009. **22**(2): p. 291-321.
73. Choi, M.J., et al., *Resistance mechanisms and clinical features of fluconazole-nonsusceptible Candida tropicalis isolates compared with fluconazole-less-susceptible isolates*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2016. **60**(6): p. 3653-3661.
74. Pais, P., et al., *Membrane proteomics analysis of the Candida glabrata response to 5-flucytosine: unveiling the role and regulation of the drug efflux transporters CgFlr1 and CgFlr2*. Frontiers in Microbiology, 2016. **7**: p. 2045.
75. Sanglard, D., *Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens*. Frontiers in medicine, 2016. **3**: p. 11.
76. Dunkel, N., et al., *A gain-of-function mutation in the transcription factor Upc2p causes upregulation of ergosterol biosynthesis genes and increased fluconazole resistance in a clinical Candida albicans isolate*. Eukaryotic cell, 2008. **7**(7): p. 1180-1190.
77. Snelders, E., Melchers, W. J., & Verweij, P. E., *Azole resistance in Aspergillus fumigatus: a new challenge in the management of invasive aspergillosis?* Future microbiology, 2011. **6**(3): p. 335-347.
78. Bennett, J.E., et al., *A comparison of amphotericin B alone and combined with flucytosine in the treatment of cryptoccal meningitis*. New England Journal of Medicine, 1979. **301**(3): p. 126-131.
79. Hope, W.W., et al., *Molecular mechanisms of primary resistance to flucytosine in Candida albicans*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2004. **48**(11): p. 4377-4386.
80. Vandeputte, P., et al., *Molecular mechanisms of resistance to 5-fluorocytosine in laboratory mutants of Candida glabrata*. Mycopathologia, 2011. **171**: p. 11-21.
81. Lamb, D.C., et al., *The R467K amino acid substitution in Candida albicans sterol 14 α -demethylase causes drug resistance through reduced affinity*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000. **44**(1): p. 63-67.
82. Hargrove, T.Y., et al., *Structure-functional characterization of cytochrome P450 sterol 14 α -demethylase (CYP51B) from Aspergillus fumigatus and molecular basis for the development of antifungal drugs*. Journal of Biological Chemistry, 2015. **290**(39): p. 23916-23934.
83. Kelly, S., et al., *Resistance to fluconazole and cross-resistance to amphotericin B in Candida albicans from AIDS patients caused by defective sterol $\Delta 5$, 6-desaturation*. FEBS letters, 1997. **400**(1): p. 80-82.
84. Zhao, Y., et al., *CD101: a novel long-acting echinocandin*. Cellular microbiology, 2016. **18**(9): p. 1308-1316.
85. Berkow, E.L. and S.R. Lockhart, *Activity of novel antifungal compound APX001A against a large collection of Candida auris*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2018. **73**(11): p. 3060-3062.
86. Oliver, J.D., et al., *F901318 represents a novel class of antifungal drug that inhibits dihydroorotate dehydrogenase*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2016. **113**(45): p. 12809-12814.

87. TAKESAKO, K., et al., *Biological properties of aureobasidin A, a cyclic depsipeptide antifungal antibiotic*. The Journal of antibiotics, 1993. **46**(9): p. 1414-1420.
88. Shibata, T., et al., *T-2307 causes collapse of mitochondrial membrane potential in yeast*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2012. **56**(11): p. 5892-5897.
89. Yamashita, K., et al., *The novel arylamidine T-2307 selectively disrupts yeast mitochondrial function by inhibiting respiratory chain complexes*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2019. **63**(8): p. 10.1128/aac. 00374-19.
90. Vézina, C., A. Kudelski, and S. Sehgal, *Rapamycin (AY-22, 989), a new antifungal antibiotic I. taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle*. The Journal of antibiotics, 1975. **28**(10): p. 721-726.
91. Cruz, M.C., et al., *Rapamycin antifungal action is mediated via conserved complexes with FKBP12 and TOR kinase homologs in Cryptococcus neoformans*. Molecular and cellular biology, 1999.
92. Wong, G.K., et al., *Antifungal activities of rapamycin and its derivatives, prolylrapamycin, 32-desmethyrapamycin, and 32-desmethoxyrapamycin*. The Journal of antibiotics, 1998. **51**(5): p. 487-491.
93. Kunz, J., et al., *Target of rapamycin in yeast, TOR2, is an essential phosphatidylinositol kinase homolog required for G1 progression*. Cell, 1993. **73**(3): p. 585-596.
94. Heitman, J., N.R. Movva, and M.N. Hall, *Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast*. Science, 1991. **253**(5022): p. 905-909.
95. Tucker, C.L. and S. Fields, *Quantitative genome-wide analysis of yeast deletion strain sensitivities to oxidative and chemical stress*. Comparative and functional genomics, 2004. **5**(3): p. 216-224.
96. Lum, P.Y., et al., *Discovering modes of action for therapeutic compounds using a genome-wide screen of yeast heterozygotes*. Cell, 2004. **116**(1): p. 121-137.
97. Giaever, G., et al., *Chemogenomic profiling: identifying the functional interactions of small molecules in yeast*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2004. **101**(3): p. 793-798.
98. Venter, J.C., et al., *The sequence of the human genome*. science, 2001. **291**(5507): p. 1304-1351.
99. Cherry, J.M., et al., *Saccharomyces Genome Database: the genomics resource of budding yeast*. Nucleic acids research, 2012. **40**(D1): p. D700-D705.
100. Teixeira, M.C., et al., *The YEASTRACT database: a tool for the analysis of transcription regulatory associations in Saccharomyces cerevisiae*. Nucleic acids research, 2006. **34**(suppl_1): p. D446-D451.
101. Parveen, M., et al., *Response of Saccharomyces cerevisiae to a monoterpene: evaluation of antifungal potential by DNA microarray analysis*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2004. **54**(1): p. 46-55.
102. Tsukahara, K., et al., *Medicinal genetics approach towards identifying the molecular target of a novel inhibitor of fungal cell wall assembly*. Molecular microbiology, 2003. **48**(4): p. 1029-1042.
103. Bammert, G.F. and J.M. Fostel, *Genome-wide expression patterns in Saccharomyces cerevisiae: comparison of drug treatments and genetic alterations affecting biosynthesis of ergosterol*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2000. **44**(5): p. 1255-1265.
104. Launhardt, H., A. Hinnen, and T. Munder, *Drug-induced phenotypes provide a tool for the functional analysis of yeast genes*. Yeast, 1998. **14**(10): p. 935-942.
105. Stephens, C., et al., *Altered fungal sensitivity to a plant antimicrobial peptide through over-expression of yeast cDNAs*. Current genetics, 2005. **47**: p. 194-201.
106. Xian, J., et al., *Genome-Scale Screening of Saccharomyces cerevisiae Deletion Mutants to Gain Molecular Insight into Tolerance to Mercury Ions*. Journal of Fungi, 2024. **10**(7): p. 492.
107. Andreeva, E., et al., *Genetic Collections of St. Petersburg University*. 2023.

108. Parsons, A.B., et al., *Exploring the mode-of-action of bioactive compounds by chemical-genetic profiling in yeast*. Cell, 2006. **126**(3): p. 611-625.
109. Markovich, S., et al., *Genomic approach to identification of mutations affecting caspofungin susceptibility in Saccharomyces cerevisiae*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2004. **48**(10): p. 3871-3876.
110. Venancio, T.M., D. Bellieny-Rabelo, and L. Aravind, *Evolutionary and biochemical aspects of chemical stress resistance in Saccharomyces cerevisiae*. Frontiers in Genetics, 2012. **3**: p. 47.
111. Giaever, G., et al., *Functional profiling of the Saccharomyces cerevisiae genome*. nature, 2002. **418**(6896): p. 387-391.
112. Shoemaker, D.D., et al., *Quantitative phenotypic analysis of yeast deletion mutants using a highly parallel molecular bar-coding strategy*. Nature genetics, 1996. **14**(4): p. 450-456.
113. Aebersold, R. and M. Mann, *Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function*. Nature, 2016. **537**(7620): p. 347-355.
114. Zhang, Y., et al., *Protein analysis by shotgun/bottom-up proteomics*. Chemical reviews, 2013. **113**(4): p. 2343-2394.
115. Gregorich, Z.R. and Y. Ge, *Top-down proteomics in health and disease: Challenges and opportunities*. Proteomics, 2014. **14**(10): p. 1195-1210.
116. Borràs, E. and E. Sabidó, *What is targeted proteomics? A concise revision of targeted acquisition and targeted data analysis in mass spectrometry*. Proteomics, 2017. **17**(17-18): p. 1700180.
117. Mandy, F.F., M. Bergeron, and T. Minkus, *Principles of flow cytometry*. Transfusion science, 1995. **16**(4): p. 303-314.
118. Shapiro, H.M., *Practical flow cytometry*. 2005: John Wiley & Sons.
119. Longin, C., et al., *Application of flow cytometry to wine microorganisms*. Food Microbiology, 2017. **62**: p. 221-231.
120. Davey, H.M. and D.B. Kell, *Flow cytometry and cell sorting of heterogeneous microbial populations: the importance of single-cell analyses*. Microbiological reviews, 1996. **60**(4): p. 641-696.
121. Lehtinen, J., J. Nuutila, and E.M. Lilius, *Green fluorescent protein-propidium iodide (GFP-PI) based assay for flow cytometric measurement of bacterial viability*. Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology, 2004. **60**(2): p. 165-172.
122. Lass-Flörl, C., et al., *Studies of in vitro activities of voriconazole and itraconazole against Aspergillus hyphae using viability staining*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2001. **45**(1): p. 124-128.
123. Balajee, S.A. and K.A. Marr, *Conidial viability assay for rapid susceptibility testing of Aspergillus species*. Journal of clinical microbiology, 2002. **40**(8): p. 2741-2745.
124. Ramani, R., M. Gangwar, and V. Chaturvedi, *Flow cytometry antifungal susceptibility testing of Aspergillus fumigatus and comparison of mode of action of voriconazole vis-a-vis amphotericin B and itraconazole*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2003. **47**(11): p. 3627-3629.
125. Chaturvedi, V., R. Ramani, and M.A. Pfaller, *Collaborative study of the NCCLS and flow cytometry methods for antifungal susceptibility testing of Candida albicans*. Journal of clinical microbiology, 2004. **42**(5): p. 2249-2251.
126. Mitchell, M., M. Hudspeth, and A. Wright, *Flow cytometry susceptibility testing for the antifungal caspofungin*. Journal of clinical microbiology, 2005. **43**(6): p. 2586-2589.
127. Pina-Vaz, C., et al., *Susceptibility to fluconazole of Candida clinical isolates determined by FUN-1 staining with flow cytometry and epifluorescence microscopy*. Journal of medical microbiology, 2001. **50**(4): p. 375-382.

128. Favel, A., et al., *Amphotericin B susceptibility testing of Candida lusitanae isolates by flow cytofluorometry: comparison with the Etest and the NCCLS broth macrodilution method*. Journal of antimicrobial chemotherapy, 1999. **43**(2): p. 227-232.
129. Benabdelmouna, A. and C. Ledu, *The mass mortality of blue mussels (Mytilus spp.) from the Atlantic coast of France is associated with heavy genomic abnormalities as evidenced by flow cytometry*. Journal of invertebrate pathology, 2016. **138**: p. 30-38.
130. Darzynkiewicz, Z., X. Huang, and H. Zhao, *Analysis of cellular DNA content by flow cytometry*. Current protocols in immunology, 2017. **119**(1): p. 5.7. 1-5.7. 20.
131. Cossarizza, A., et al., *Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies*. European journal of immunology, 2019. **49**(10): p. 1457-1973.
132. Suzuki, T., et al., *DNA staining for fluorescence and laser confocal microscopy*. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 1997. **45**(1): p. 49-53.
133. van Zandvoort, M.A., et al., *Discrimination of DNA and RNA in cells by a vital fluorescent probe: lifetime imaging of SYTO13 in healthy and apoptotic cells*. Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology, 2002. **47**(4): p. 226-235.
134. García-Varela, R., et al., *Antimicrobial activity of Rhoeo discolor phenolic rich extracts determined by flow cytometry*. Molecules, 2015. **20**(10): p. 18685-18703.
135. Ding, Y., et al., *Alteramide B is a microtubule antagonist of inhibiting Candida albicans*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2016. **1860**(10): p. 2097-2106.
136. Pang, C., et al., *In vitro antifungal activity of Shikonin against Candida albicans by inducing cellular apoptosis and necrosis*. Molecular Biology Reports, 2023. **50**(2): p. 1079-1087.
137. Kim, S., E.R. Woo, and D.G. Lee, *Synergistic antifungal activity of isoquercitrin: apoptosis and membrane permeabilization related to reactive oxygen species in Candida albicans*. IUBMB life, 2019. **71**(2): p. 283-292.
138. Iyer, K.R., N. Robbins, and L.E. Cowen, *Flow cytometric measurement of efflux in Candida species*. Current protocols in microbiology, 2020. **59**(1): p. e121.
139. Krishan, A. and R.M. Hamelik, *Flow cytometric monitoring of fluorescent drug retention and efflux*. Chemosensitivity: Volume II: In VIVO Models, Imaging, and Molecular Regulators, 2005: p. 149-166.
140. Chalfie, M., et al., *Green fluorescent protein as a marker for gene expression*. Science, 1994. **263**(5148): p. 802-805.
141. Li, Y., et al., *Yeast mutants affecting possible quality control of plasma membrane proteins*. Molecular and cellular biology, 1999. **19**(5): p. 3588-3599.
142. Suzuki, K., et al., *Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization*. Genes to Cells, 2007. **12**(2): p. 209-218.
143. Holland, S.L., et al., *Phenotypic heterogeneity is a selected trait in natural yeast populations subject to environmental stress*. Environmental microbiology, 2014. **16**(6): p. 1729-1740.
144. Guyot, S., et al., *Surviving the heat: heterogeneity of response in S accharomyces cerevisiae provides insight into thermal damage to the membrane*. Environmental microbiology, 2015. **17**(8): p. 2982-2992.
145. LaFleur, M.D., C.A. Kumamoto, and K. Lewis, *Candida albicans biofilms produce antifungal-tolerant persister cells*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2006. **50**(11): p. 3839-3846.
146. Pierce, J.V. and C.A. Kumamoto, *Variation in Candida albicans EFG1 expression enables host-dependent changes in colonizing fungal populations*. MBio, 2012. **3**(4): p. 10.1128/mbio.00117-12.
147. Dumeaux, V., et al., *Candida albicans exhibits heterogeneous and adaptive cytoprotective responses to antifungal compounds*. Elife, 2023. **12**: p. e81406.
148. Ferreira, G.F. and D.A. Santos, *Heteroresistance and fungi*. Mycoses, 2017. **60**(9): p. 562-568.

149. El-Halfawy, O.M. and M.A. Valvano, *Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity*. Clinical microbiology reviews, 2015. **28**(1): p. 191-207.
150. Gautier, C., E.I. Maciel, and I.V. Ene, *Approaches for identifying and measuring heteroresistance in azole-susceptible Candida isolates*. Microbiology Spectrum, 2024. **12**(4): p. e04041-23.
151. Sionov, E., et al., *Heteroresistance to fluconazole in Cryptococcus neoformans is intrinsic and associated with virulence*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2009. **53**(7): p. 2804-2815.
152. Mondon, P., et al., *Heteroresistance to fluconazole and voriconazole in Cryptococcus neoformans*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1999. **43**(8): p. 1856-1861.
153. Claudino, A., et al., *Mutants with heteroresistance to amphotericin B and fluconazole in Candida*. Brazilian Journal of Microbiology, 2009. **40**: p. 943-951.
154. Li, P., et al., *Delicate metabolic control and coordinated stress response critically determine antifungal tolerance of Candida albicans biofilm persisters*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2015. **59**(10): p. 6101-6112.
155. Brauner, A., et al., *Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment*. Nature Reviews Microbiology, 2016. **14**(5): p. 320-330.
156. Dymond, J.S., *Chapter twelve-Saccharomyces cerevisiae growth media*. Methods Enzymol, 2013. **533**: p. 191-204.
157. Wayne, P., *Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 2022.
158. Agaphonov, M.O., *Improvement of a yeast self-excising integrative vector by prevention of expression leakage of the intronated Cre recombinase gene during plasmid maintenance in Escherichia coli*. FEMS Microbiology Letters, 2017. **364**(22): p. fnx222.
159. Alexandrov, A.I. and A.A. Dergalev, *Increasing throughput of manual microscopy of cell suspensions using solid medium pads*. MethodsX, 2019. **6**: p. 329-332.
160. Rosebrock, A.P., *Synchronization and arrest of the budding yeast cell cycle using chemical and genetic methods*. Cold Spring Harbor Protocols, 2017. **2017**(1): p. pdb. prot088724.
161. Fokina, A., et al., *Inactivation of Pmc1 vacuolar Ca²⁺ ATPase causes G2 cell cycle delay in Hansenula polymorpha*. Cell Cycle, 2012. **11**(4): p. 778-784.
162. Reeder, N.L., et al., *Zinc pyrithione inhibits yeast growth through copper influx and inactivation of iron-sulfur proteins*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2011. **55**(12): p. 5753-5760.
163. Leong, C., et al., *Effect of zinc pyrithione shampoo treatment on skin commensal Malassezia*. Medical Mycology, 2021. **59**(2): p. 210-213.
164. Salina, E.G., et al., *Copper-related toxicity in replicating and dormant Mycobacterium tuberculosis caused by 1-hydroxy-5-R-pyridine-2 (1 H)-thiones*. Metallomics, 2018. **10**(7): p. 992-1002.
165. Alexandrova, L.A., et al., *3'-Amino modifications enhance the antifungal properties of N 4-alkyl-5-methylcytidines for potential biocides*. New Journal of Chemistry, 2022. **46**(12): p. 5614-5626.
166. Alexandrova, L.A., et al., *Discovery of novel N4-alkylcytidines as promising antimicrobial agents*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. **215**: p. 113212.
167. Шилова, И.Б., *Изучение производного тиазолидин-2, 4-диона (микозидина) в качестве потенциального противогрибкового средства*. Автореф.... к. м. н. Старая Купавна, 2007.
168. Song, N., et al., *A proteomic landscape of candida albicans in the stepwise evolution to fluconazole resistance*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2022. **66**(4): p. e02105-21.
169. Balzi, E., et al., *PDR5, a novel yeast multidrug resistance conferring transporter controlled by the transcription regulator PDR1*. Journal of Biological Chemistry, 1994. **269**(3): p. 2206-2214.

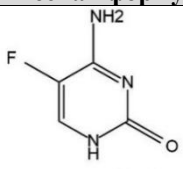
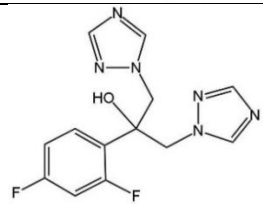
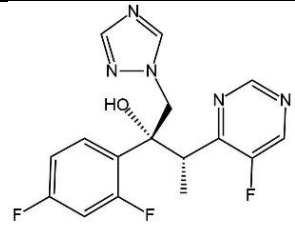
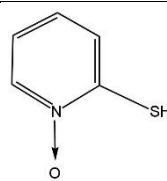
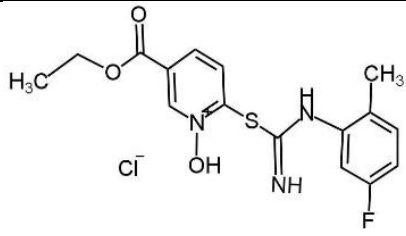
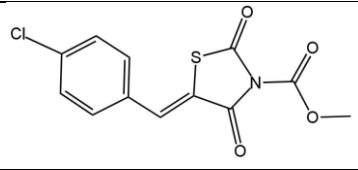
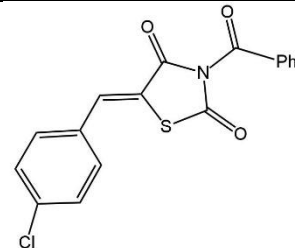
170. Lee, W. and D.G. Lee, *A novel mechanism of fluconazole: fungicidal activity through dose-dependent apoptotic responses in Candida albicans*. Microbiology, 2018. **164**(2): p. 194-204.
171. Lee, W. and D.G. Lee, *Reactive oxygen species modulate itraconazole-induced apoptosis via mitochondrial disruption in Candida albicans*. Free Radical Research, 2018. **52**(1): p. 39-50.
172. Vandenbosch, D., et al., *Fungicidal activity of miconazole against Candida spp. biofilms*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2010. **65**(4): p. 694-700.
173. Belenky, P., D. Camacho, and J.J. Collins, *Fungicidal drugs induce a common oxidative-damage cellular death pathway*. Cell reports, 2013. **3**(2): p. 350-358.
174. Łukowska-Chojnacka, E., et al., *Synthesis of tetrazole derivatives bearing pyrrolidine scaffold and evaluation of their antifungal activity against Candida albicans*. European journal of medicinal chemistry, 2019. **164**: p. 106-120.
175. Shanmuganathan, A., et al., *Copper-induced oxidative stress in Saccharomyces cerevisiae targets enzymes of the glycolytic pathway*. FEBS letters, 2004. **556**(1-3): p. 253-259.
176. Fazius, F., et al., *The fungal α -amino adipate pathway for lysine biosynthesis requires two enzymes of the aconitase family for the isomerization of homocitrate to homoisocitrate*. Molecular microbiology, 2012. **86**(6): p. 1508-1530.
177. Dawood, A.A. and M.A. Altobje, *Inhibition of N-linked glycosylation by tunicamycin may contribute to the treatment of SARS-CoV-2*. Microbial pathogenesis, 2020. **149**: p. 104586.
178. Takatsuki, A. and G. Tamura, *Inhibition of glycoconjugate biosynthesis by tunicamycin*. 1982, Japan Scientific Societies Press Tokyo. p. 35-70.
179. Hanzén, S., et al., *Lifespan control by redox-dependent recruitment of chaperones to misfolded proteins*. Cell, 2016. **166**(1): p. 140-151.
180. Lajoie, P., et al., *Kar2p availability defines distinct forms of endoplasmic reticulum stress in living cells*. Molecular biology of the cell, 2012. **23**(5): p. 955-964.
181. Ghazy, E., et al., *SCRAPPY-a single cell rapid assay of proteome perturbation in yeast uncovers a joint role of aromatic amino acids and oxidative stress in the toxicity of lipophilic nucleoside analogs*. bioRxiv, 2024: p. 2024.02. 19.580949.
182. Zhao, F., et al., *Multiple cellular responses guarantee yeast survival in presence of the cell membrane/wall interfering agent sodium dodecyl sulfate*. Biochemical and biophysical research communications, 2020. **527**(1): p. 276-282.
183. Schroeder, L. and A.E. Ikui, *Tryptophan confers resistance to SDS-associated cell membrane stress in Saccharomyces cerevisiae*. PLoS One, 2019. **14**(3): p. e0199484.
184. McClellan, A.J., et al., *Yeast require an intact tryptophan biosynthesis pathway and exogenous tryptophan for resistance to sodium dodecyl sulfate*. Journal of Student Research, 2015. **4**(1): p. 74-82.
185. Cao, C., et al., *Genome-wide identification for genes involved in sodium dodecyl sulfate toxicity in Saccharomyces cerevisiae*. BMC Microbiology, 2020. **20**: p. 1-11.
186. Wang, D., et al., *Development of a novel class of glucose transporter inhibitors*. Journal of medicinal chemistry, 2012. **55**(8): p. 3827-3836.
187. Russo, C.D., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor γ thiazolidinedione agonists increase glucose metabolism in astrocytes*. Journal of Biological Chemistry, 2003. **278**(8): p. 5828-5836.
188. Hauner, H., *The mode of action of thiazolidinediones*. Diabetes/metabolism research and reviews, 2002. **18**(S2): p. S10-S15.
189. Galkina, K.V., et al., *Protonophore FCCP provides fitness advantage to PDR-deficient yeast cells*. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2020. **52**: p. 383-395.
190. Kulakova, M.V., et al., *The GEM-GECO Calcium Indicator Is Useable in Ogataea parapolymorpha Yeast, but Aggravates Effects of Increased Cytosolic Calcium Levels*. International Journal of Molecular Sciences, 2022. **23**(17): p. 10004.

191. Osuga, M., T. Nishimura, and S. Suetsugu, *Development of a green reversibly photoswitchable variant of Eos fluorescent protein with fixation resistance*. *Molecular Biology of the Cell*, 2021. **32**(21): p. br7.
192. Paez-Segala, M.G., et al., *Fixation-resistant photoactivatable fluorescent proteins for CLEM*. *Nature methods*, 2015. **12**(3): p. 215-218.
193. Rubiolo, J.A., et al., *Crambescidin-816 acts as a fungicidal with more potency than crambescidin-800 and-830, inducing cell cycle arrest, increased cell size and apoptosis in Saccharomyces cerevisiae*. *Marine drugs*, 2013. **11**(11): p. 4419-4434.
194. Zore, G.B., et al., *Terpenoids inhibit Candida albicans growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle*. *Phytomedicine*, 2011. **18**(13): p. 1181-1190.
195. Eriksson, P.R., et al., *Regulation of histone gene expression in budding yeast*. *Genetics*, 2012. **191**(1): p. 7-20.
196. Hereford, L., et al., *Isolation of yeast histone genes H2A and H2B*. *Cell*, 1979. **18**(4): p. 1261-1271.
197. Smith, M.M. and K. Murray, *Yeast H3 and H4 histone messenger RNAs are transcribed from two non-allelic gene sets*. *Journal of molecular biology*, 1983. **169**(3): p. 641-661.
198. Barrero, J.J., et al., *An improved secretion signal enhances the secretion of model proteins from Pichia pastoris*. *Microbial cell factories*, 2018. **17**: p. 1-13.
199. Kulakova, M.V., et al., *Histone Abundance Quantification via Flow Cytometry of Htb2-GFP Allows Easy Monitoring of Cell Cycle Perturbations in Living Yeast Cells, Comparable to Standard DNA Staining*. *Journal of Fungi*, 2023. **9**(10): p. 1033.
200. Li, B., et al., *Preferential occupancy of histone variant H2AZ at inactive promoters influences local histone modifications and chromatin remodeling*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005. **102**(51): p. 18385-18390.
201. Vai, M., L. Popolo, and L. Alberghina, *Effect of tunicamycin on cell cycle progression in budding yeast*. *Experimental cell research*, 1987. **171**(2): p. 448-459.
202. Carmona-Gutierrez, D., et al., *Guidelines and recommendations on yeast cell death nomenclature*. *Microbial Cell*, 2018. **5**(1): p. 4.
203. Qiao, L., et al., *Effect of Post-Polyketide Synthase Modification Groups on Property and Activity of Polyene Macrolides*. *Antibiotics*, 2023. **12**(1): p. 119.
204. Tevyashova, A.N., et al., *Discovery of amphamide, a drug candidate for the second generation of polyene antibiotics*. *ACS Infectious Diseases*, 2020. **6**(8): p. 2029-2044.
205. National Center for Biotechnology Information (2024). *PubChem Compound Summary for CID 11953884, Nystatin*. Retrieved May 14, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nystatin>.
206. National Center for Biotechnology Information (2024). *PubChem Compound Summary for CID 5280965, Amphotericin B*. Retrieved May 14, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Amphotericin>.
207. Bhattacharya, S., B.D. Esquivel, and T.C. White, *Overexpression or deletion of ergosterol biosynthesis genes alters doubling time, response to stress agents, and drug susceptibility in Saccharomyces cerevisiae*. *MBio*, 2018. **9**(4): p. 10.1128/mbio.01291-18.
208. Kodedová, M. and H. Sychrová, *Changes in the sterol composition of the plasma membrane affect membrane potential, salt tolerance and the activity of multidrug resistance pumps in Saccharomyces cerevisiae*. *PloS one*, 2015. **10**(9): p. e0139306.
209. Barreto, L., et al., *A genomewide screen for tolerance to cationic drugs reveals genes important for potassium homeostasis in Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryotic cell*, 2011. **10**(9): p. 1241-1250.
210. Wachtler, V., S. Rajagopalan, and M.K. Balasubramanian, *Sterol-rich plasma membrane domains in the fission yeast Schizosaccharomyces pombe*. *Journal of cell science*, 2003. **116**(5): p. 867-874.
211. Szomek, M., et al., *Ergosterol promotes aggregation of natamycin in the yeast plasma membrane*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2024: p. 184350.

212. Rizzo, J., et al., *Coregulation of extracellular vesicle production and fluconazole susceptibility in Cryptococcus neoformans*. MBio, 2023. **14**(4): p. e00870-23.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица П 1- Химические названия и структуры соединений, использованных в исследовании

вещества	Номенклатура ИЮПАК	Химическая формула*
5-фторцитозин (5-FC)	4-амино-5-фторпиримидин-2(1H)-он	
Флуконазол (Flu)	2-(2,4-дифторфенил)-1,3-ди(1H-1,2,4-триазол-1-ил)пропан-2-ол	
Вориконазол (Vor)	(2R,3S)-2-(2,4-дифторфенил)-3-(5-фторпиримидин-4-ил)-1-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)бутан-2-ол	
2 меркаптопиридин- N-оксид (MP)	меркаптопиридин-1-оксид	
11326083	5-(этоксикарбонил)-2-((N-(2-фтор-5-метилфенил)карбамимидоил)тио)-1-гидрокси-1-хлорид натрия	
Микозидин (Мусо)	метил (Z)-5-(4-хлорбензилиден)-2,4-диоксотиазолидин-3-карбоксилат	
3-бензоильное производное микозидина (ЗВ-Мус)	5-(4-хлорбензил)-3-(1-гидрокси-2-фенилэтил)оксазолидин-2,4-дион	

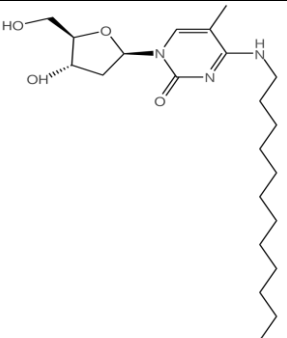
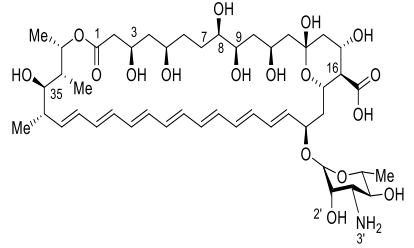
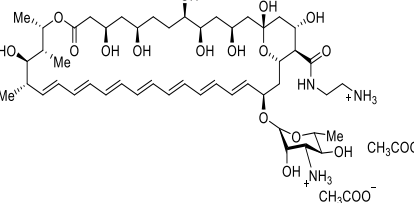
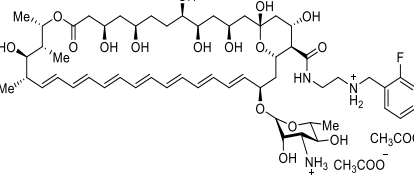
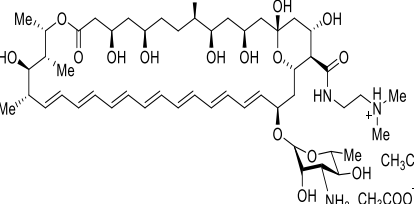
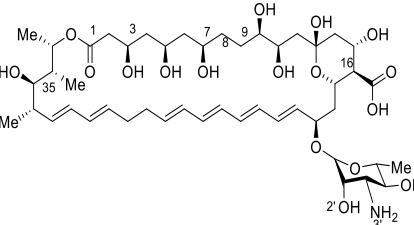
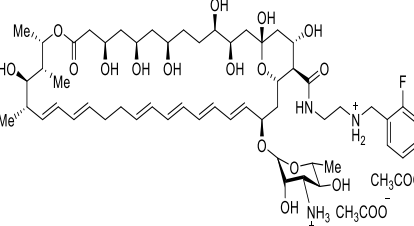
*Все химические структуры были нарисованы с помощью программы KingDraw (<http://www.kingdraw.cn/en/index.html>)

Продолжение таблицы П. 1 Химические названия и структуры соединений, использованных в исследовании

вещества	Номенклатура ИЮПАК	Химическая формула*
L-173	5-(4-хлорбензил)-3-(2-(4-(2-(2,4-дифторфенил)-2-гидрокси-3-(1H-1,24-триазол-1-ил)пропил)пиперазин-1-ил)аллил)тиазолидин-2,4-дион	
Туникамицин	(E)-N-[(2S,3R,4R,5R,6R)-2-[(2R,3R,4R,5S,6R)-3-ацетиламино-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил) оксан-2-ил] окси-6-[2-[(2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-диоксопиримидин-1-ил)-3,4-дигидроксиоксолан-2-ил]-2-гидроксиэтил]-4,5-дигидроксиоксан-3-ил]-5-метилгекс-2-енамид	
Додecilсульфат натрия (SDS)	Додecilсульфат натрия	
3'-амино-N4-додecil-5-метил-2',3'-дидезоксицитидин (SOV4)	1-((2R,4S,5S)-4-амино-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-4-(додecilамино)-5-метилпиримидин-2(1H)-он	
3'-диметиламино-N4-додecil-5-метил-2',3'-дидезоксицитидин (SOV8)	1-((2R,4S,5S)-4-(диметиламино)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-4-(додecilамино)-5-метилпиримидин-2(1H)-он	

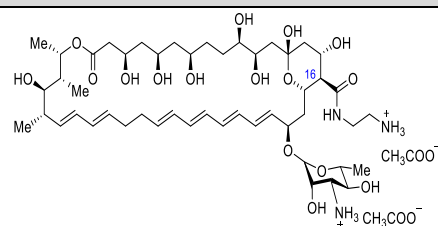
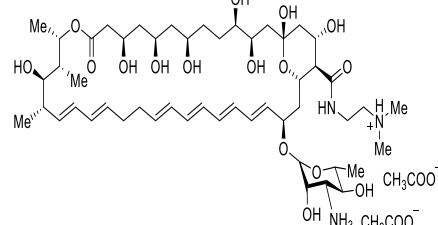
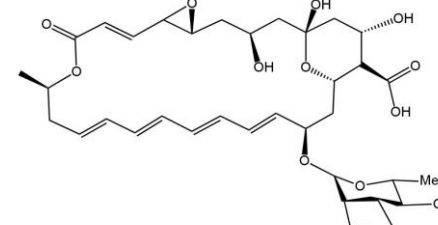
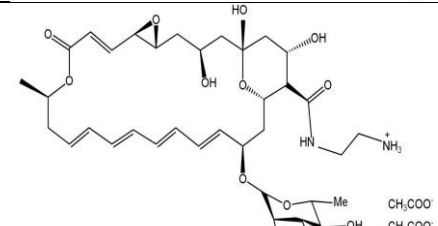
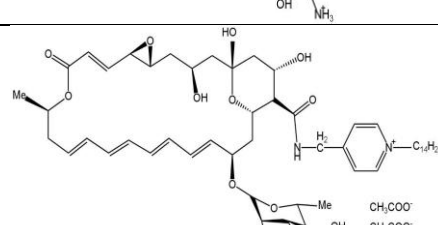
*Все химические структуры были нарисованы с помощью программы KingDraw (<http://www.kingdraw.cn/en/index.html>)

Продолжение таблицы П. 1 Химические названия и структуры соединений, использованных в исследовании

вещества	Номенклатура ИЮПАК	Химическая формула*
N4-додecil-2'-дезокситидин (Ala-54)	4-(додecilамино)-1-((2R,4S,5R)-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-5-метилпиримидин-2(1H)-он	
Амфотерицин Б	(1R,3S,5R,6R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,23E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-33-(((3S,4S,5S,6R)-4-амино-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-1,3,5,6,9,11,17,37-октагидрокси-15,16,18-триметил-13-оксо-14,39-диоксабицикло[33.3.1]нонатриаконта-19,21,23,25,27,29,31-гептаен-36-карбоновая кислота	
LCTA -3114	(3S,4S,5S,6R)-2-(((1R,3S,5R,6R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,23E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-36-((2-аммонийэтил)карбамоил)-1,3,5,6,9,11,17,37-октагидрокси-15,16,18-триметил-13-оксо-14,39-диоксабицикло[33.3.1]нонатриаконта-19,21,23,25,27,29,31-гептаен-33-ил(окси)-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-4-ил)ацетат аммония	
LCTA -3283	(3S,4S,5S,6R)-2-(((1R,3S,5R,6R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,23E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-36-((2-(фторбензил)амино)этил)карбамоил)-1,3,5,6,9,11,17,37-октагидрокси-15,16,18-триметил-13-оксо-14,39-диоксабицикло[33.3.1]нонатриаконта-19,21,23,25,27,29,31-гептаен-33-ил(окси)-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-4-ил)ацетат аммония	
LCTA -3315	(3S,4S,5S,6R)-2-(((1R,3S,5R,6R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,23E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-36-((2-(диметиламмоний)этил)карбамоил)-1,3,5,6,9,11,17,37-октагидрокси-15,16,18-триметил-13-оксо-14,39-диоксабицикло[33.3.1]нонатриаконта-19,21,23,25,27,29,31-гептаен-33-ил(окси)-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-4-ил)аминий	
Нистатин	(1S,3R,4R,7R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,23E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-33-(((3S,4S,5S,6R)-4-амино-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-1,3,4,7,9,11,17,37-октагидрокси-15,16,18-триметил-13-оксо-14,39-диоксабицикло[33.3.1]нонатриаконта-19,21,23,25,27,29,31-гептаен-36-карбоновая кислота	
LCTA -3285	(3S,4S,5S,6R)-2-((((1S,3R,4R,7R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,23E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-36-((2-(фторбензил)амино)этил)карбамоил)-1,3,4,7,9,11,17,37-октагидрокси-15,16,18-триметил-13-оксо-14,39-диоксабицикло[33.3.1]нонатриаконта-19,21,23,25,27,29,31-гептаен-33-ил(окси)-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-4-ил)амина ацетат	

*Все химические структуры были нарисованы с помощью программы KingDraw (<http://www.kingdraw.cn/en/index.html>)

Продолжение таблицы П. 1 Химические названия и структуры соединений, использованных в исследовании

вещества	Номенклатура ИЮПАК	Химическая формула*
LCTA -3255	(3S,4S,5S,6R)-2-(((1S,3R,4R,7R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,23E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-36-(2-аммониоэтил)карбамоил)-1,3,4,7,9,11,17,37-октагидроксидиоксибицикло[3.3.1]нонактиаконта-19,21,23,25,27,29,31-гептаен-33-ил(окси)-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-4-аминия ацетат	
LCTA -3317	(3S,4S,5S,6R)-2-(((1S,3R,4R,7R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,23E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-36-(2-(диметиламмоний)этил)карбамоил)-1,3,4,7,9,11,17,37-октагидроксидиоксибицикло[3.3.1]нонактиаконта-19,21,23,25,27,29,31-гептаен-33-ил(окси)-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-4-аминия ацетат	
Натамицин	((1R,3S,5R,8E,12R,14E,16E,18E,20E,22R,24S,25R,26S)-22-(((3S,4S,5S,6R)-4-амино-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-1,3,26-тригидрокси-12-метил-10-оксо-6,11,28-триоксатрицикло[22.3.1.0 ^{5,7}]Джоктакоза-8,14,16,18,20-пентаен-25-карбоновая кислота	
LCTA -3115	((3S,4S,5S,6R)-2-(((1R,3S,5R,7R,8E,12R,14E,16E,18E,20E,22R,24S,25R,26S)-25-(2-аммониоэтил)карбамоил)-1,3,26-тригидрокси-12-метил-10-оксо-6,11,28-триоксатрицикло[22.3.1.0 ^{5,7}]октакоза-8,14,16,18,20-пентаен-22-ил)окси)-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-4-аминия ацетат	
LCTA -3282	4-(((1R,3S,5R,7R,8E,12R,14E,16E,18E,20E,22R,24S,25R,26S)-22-(((3S,4S,5S,6R)-4-амино-3,5-дигидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-1,3,26-тригидрокси-12-метил-10-оксо-6,11,28-триоксатрицикло[22.3.1.0 ^{5,7}]октакоза-8,14,16,18,20-пентаен-25-карбоксамидо)метил)-1-тетрадецилпирдин-1-ий ацетат	

*Все химические структуры были нарисованы с помощью программы KingDraw (<http://www.kingdraw.cn/en/index.html>)

Таблица П 2 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние веществ 11326083 на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	11326083 (контроль)					11326083 (МИК/2)							11326083 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	76,4	67,9	52,7	65,667	12,007	103,7	126,3	11,9	80,63	60,59	+0,42	0,330	90,2	98,9	3,4	64,17	52,80	-0,05	0,478
His7	121,8	172,6	97,2	130,533	38,451	120,3	70,3	52,6	81,07	35,11	-1,65	0,116	105,7	83,6	49	79,43	28,58	-1,85	0,068
Trp3	98,3	167	66,1	110,467	51,539	108,8	90,1	55,1	84,67	27,26	-0,77	0,215	106,5	100,1	84,2	96,93	11,48	-0,44	0,332
Aro2	141,6	184	93,6	139,733	45,229	136,3	116,6	80,9	111,27	28,08	-0,93	0,142	111,6	91,6	74,4	92,53	18,62	-1,67	0,087
Lys1	389,6	504,8	305,9	400,100	99,865	173,9	86,1	37,2	99,07	69,27	-4,29	0,019	126,6	110,7	26,1	87,80	54,02	-4,76	0,008
Hom2	187,1	225,4	111,1	174,533	58,177	132,8	59,7	71,5	88,00	39,24	-2,14	0,081	99,3	71,1	58,5	76,30	20,89	-2,75	0,041
Aro3	95,5	127,5	61,6	94,867	32,955	85,9	83,8	39,1	69,60	26,43	-1,04	0,063	65,6	67	36,7	56,43	17,10	-1,79	0,037
Car1	416,7	507,9	312,9	412,500	97,568	407	223,9	356,2	329,03	94,52	-1,06	0,249	369,4	334,8	445,4	383,20	56,58	-0,45	0,386
Sam4	200,2	221,9	135,5	185,867	44,948	156,2	47,9	79,9	94,67	55,64	-2,21	0,080	166,7	93,5	54,8	105,00	56,83	-1,93	0,049
Sui2	-1	15,3	-13,6	0,233	14,489	-0,3	3,1	-29,3	-8,83	17,81	-0,68	0,105	-1,6	-13,2	-32,1	-15,63	15,39	-1,30	0,096
Gcv3	113	120,7	88,2	107,300	16,983	152,2	228,2	63,4	147,93	82,48	+0,84	0,199	138,4	130,8	66,5	111,90	39,50	+0,19	0,386
Rnr4	1195,8	1306,1	831,6	1111,167	248,314	1040,7	605,7	758,7	801,70	220,66	-1,61	0,128	925,9	662,9	1393,3	994,03	369,94	-0,46	0,387
Pdc1	9323,6	9792,1	7830,8	8982,167	1024,259	9481,3	9663,3	8127,2	9090,60	839,28	+0,14	0,239	9518,6	9266,4	9297,8	9360,93	137,44	+0,63	0,291
Pyc2	142,9	183,3	123,5	149,900	30,508	132,8	90,7	58,5	94,00	37,26	-2,01	0,074	115,8	87,2	66,2	89,73	24,90	-2,65	0,047
Tps3	93,7	101,1	81,2	92,000	10,058	128,5	131,9	75,2	111,87	31,80	+1,03	0,133	132,6	112,3	106,6	117,17	13,67	+2,57	0,044
Tsl1	64,1	62,5	87,4	71,333	13,937	208,5	454,8	297,9	320,40	124,68	+3,44	0,039	244,8	384,4	380,4	336,53	79,47	+5,69	0,013
Pgm2	85,9	86,5	147,9	106,767	35,624	263,6	553,5	378,7	398,60	145,97	+3,36	0,041	287,4	425	570,7	427,70	141,67	+3,81	0,019
Ald4	120,9	120,6	117,9	119,800	1,652	160,9	357	139,5	219,13	119,87	+1,44	0,143	150,7	310,4	158,5	206,53	90,04	+1,67	0,117
Hxk1	511,7	522,6	865,1	633,133	200,963	1601,7	3354,9	1777,6	2244,73	965,45	+2,83	0,060	1456	2689,1	2063,5	2069,53	616,57	+3,84	0,031
Pda1	124,5	132,8	136,5	131,267	6,145	284,8	331,8	227,1	281,23	52,44	+4,92	0,021	257,6	297,9	251,9	269,13	25,08	+9,25	0,005
Idp1	136,7	132,2	121,3	130,067	7,919	210,3	186,9	131,1	176,10	40,69	+1,92	0,068	187,3	167,2	173,7	176,07	10,26	+6,15	0,007
Tal1	412,3	387,8	326,9	375,667	43,974	475	423,6	502,8	467,13	40,18	+2,66	0,083	521,4	454,6	603,7	526,57	74,68	+3,02	0,071
Hxt3	840,4	981,7	771,6	864,567	107,115	540,6	74,5	562,9	392,67	275,77	-2,76	0,082	370,3	224,7	707,6	434,20	247,71	-2,76	0,083
Erg3	277,7	278,7	242,2	266,200	20,791	373,6	66,3	600,8	346,90	268,25	+0,52	0,337	616,3	301,1	570,9	496,10	170,39	+2,32	0,079
Pmi40	140,1	146,9	86,1	124,367	33,314	132,9	148,1	94,5	125,17	27,62	+0,03	0,438	119,8	108,4	113,1	113,77	5,73	-0,54	0,321
Hog1	97	89,4	61,9	82,767	18,466	110,8	85	45,3	80,37	32,99	-0,11	0,406	101,9	73,8	53,6	76,43	24,26	-0,36	0,201
Cwp1	102,4	166,7	174,5	147,867	39,568	57,1	48,6	89,6	65,10	21,64	-3,18	0,029	30,7	34,4	44,2	36,43	6,98	-4,80	0,015
Mdh2	211,8	191,1	156	186,300	28,208	112,4	89,9	55,4	85,90	28,71	-4,32	0,000	70,4	82,1	62,3	71,60	9,95	-6,64	0,007
Erg10	314,7	320,8	234,8	290,100	47,988	266,7	195	225,6	229,10	35,98	-1,76	0,109	244	213,7	222,7	226,80	15,56	-2,17	0,075
Lsc1	49,6	38,9	37	41,833	6,793	104,4	144,2	39,8	96,13	52,69	+1,77	0,104	63,3	102,1	48,6	71,33	27,64	+1,80	0,111
Pdr5	386,9	370,1	262	339,667	67,784	168,5	33,2	168,6	123,43	78,14	-3,62	0,046	227,6	57,8	151,5	145,63	85,05	-3,09	0,043
Dur1	52,6	59,1	-1,9	36,600	33,500	40,3	26,8	-17,8	16,43	30,41	-0,77	0,041	13,3	26,5	-16,1	7,90	21,81	-1,24	0,031
Uga1	60,1	42,8	67,1	56,667	12,509	144,1	158,2	138,3	146,87	10,23	+9,67	0,010	77,2	127	226,7	143,63	76,13	+1,95	0,084
Gpd2	273,1	280,3	174,5	242,633	59,115	214,1	101	123,8	146,30	59,81	-1,98	0,073	200,7	169,5	128,9	166,37	36,00	-1,91	0,028

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 2

Белки	11326083 (контроль)					11326083 (МИК/2)							11326083 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	408,2	382	346,3	378,833	31,071	548,4	542,4	615,2	568,67	40,41	+6,45	0,021	585,3	533,7	919,9	679,63	209,67	+2,46	0,079
Ahp1	3520,4	3034,3	3696,7	3417,13	343,06	7062,2	7942,1	7542,8	7515,70	440,58	+12,71	0,005	7448,7	6627,1	10177	8084,27	1858,33	+4,28	0,018
Grx1	32	14,8	3,9	16,90	14,17	39,5	36,2	-5,6	23,37	25,14	+0,39	0,272	42,5	26,1	-0,3	22,77	21,59	+0,39	0,182
Uth1	-0,6	-1	-2,7	-1,43	1,12	4,3	-3	-30,7	-9,80	18,46	-0,78	0,246	-6,4	-11,4	-33,5	-17,10	14,42	-1,88	0,089
Yhb1	738,1	664,7	366,6	589,80	196,75	693	310,6	570,3	524,63	195,25	-0,41	0,363	932	572,6	722,4	742,33	180,53	+0,99	0,182
Tsa1	1664,9	1718	1446,5	1609,80	143,89	1949,4	1483,2	2018	1816,87	290,99	+1,10	0,236	1884,9	1552,3	2415,7	1950,97	435,48	+1,29	0,207
Sod1	1034,4	1067,4	762,6	954,80	167,27	3786,7	2518,8	2622	2975,83	704,12	+4,84	0,017	2937,1	3282,8	2944,2	3054,70	197,57	+14,05	0,001
Trx2	221,2	114,3	145,3	160,27	55,00	1109,5	890,3	1002,7	1000,83	109,61	+11,87	0,001	1004,3	932,5	1887,7	1274,83	531,97	+3,61	0,036
Ssa2	10249,1	9564,7	7033,2	8949,00	1694,05	7499,3	4383	6519,9	6134,07	1593,58	-2,10	0,086	7054,8	4642,9	7963,1	6553,60	1715,91	-1,72	0,151
Ssa1	7592	6761,7	6644	6999,23	516,71	19151,7	15869	10746,4	15255,70	4236,08	+3,35	0,032	13159,5	15791,6	14637,1	14529,40	1319,35	+9,20	0,009
Ssa4	48,9	37,3	38,1	41,43	6,48	572,2	476,7	193,8	414,23	196,78	+3,28	0,039	306,2	459,7	329,7	365,20	82,68	+6,76	0,012
Ypk1	87,5	88	39,9	71,80	27,63	86,5	37,9	40,6	55,00	27,31	-0,75	0,210	98	46,1	55	66,37	27,75	-0,24	0,397
Sti1	990,3	926,7	682,3	866,43	162,60	998,8	1095,4	642,5	912,23	238,54	+0,27	0,271	838,8	870,9	699,4	803,03	91,17	-0,59	0,162
Bat2	226,2	267,9	203,1	232,40	32,84	280,5	142,1	267,4	230,00	76,40	-0,05	0,486	301,9	240,9	295,4	279,40	33,50	+1,74	0,167
Tdh1	166,1	134,1	264,7	188,30	68,07	451,7	1006	611	689,57	285,38	+2,96	0,057	474,6	679	1064,9	739,50	299,76	+3,11	0,030
Hsp12	53,7	46,5	356	152,07	176,65	296,2	4059,7	1538,2	1964,70	1917,66	+1,63	0,125	296,6	2595,4	1894,2	1595,40	1178,17	+2,10	0,082
Hsp104	385,3	363,7	361,6	370,20	13,12	616,1	1560,7	846,8	1007,87	492,47	+2,24	0,079	864,8	1616,8	1274,2	1251,93	376,49	+4,05	0,029
Hsp78	70,8	72,9	71,7	71,80	1,05	284,2	365,6	201,4	283,73	82,10	+4,47	0,023	299,7	393,6	274,4	322,57	62,80	+6,91	0,010
Nth1	50,7	48	35,6	44,77	8,05	91,9	86,3	69	82,40	11,94	+4,53	0,002	84,4	75,8	114,6	91,60	20,38	+3,70	0,051
Sse1	208,6	196,5	127,2	177,43	43,92	68,7	40,1	48,5	52,43	14,70	-4,67	0,017	62,8	38,6	36	45,80	14,78	-4,92	0,012
Hsc82	4307,7	3946,4	2950	3734,70	703,17	3473,2	2466,8	2765,9	2901,97	516,81	-1,65	0,078	3108,7	2696,5	3192,9	2999,37	265,65	-1,69	0,136
Tps1	199,7	178,1	202,2	193,33	13,25	727	627,8	540,9	631,90	93,12	+8,08	0,008	678,8	652,6	753,8	695,07	52,52	+16,04	0,001
Nsr1	1143,6	1159,2	882,2	1061,67	155,62	369,1	240,1	359,8	323,00	71,94	-7,46	0,012	390,5	293,9	316,1	333,50	50,60	-7,71	0,007
Pgk1	6467,4	6286,6	4765,8	5839,93	934,61	7311,6	7540,6	5170,3	6674,17	1307,41	+0,90	0,038	6149,2	6719,4	7016,9	6628,50	440,93	+1,32	0,205
Hsp42	37,1	29,3	34,5	33,63	3,97	139,4	222,5	122,1	161,33	53,67	+4,11	0,030	96,2	145,3	129,2	123,57	25,03	+6,15	0,016
Aha1	198	180,2	146,8	175,00	25,99	212,4	300,3	157,1	223,27	72,22	+1,09	0,156	217,1	241,5	189,1	215,90	26,22	+1,92	0,039
Hsp26	13,9	9,4	28	17,10	9,70	24,3	89,2	44,4	52,63	33,22	+1,78	0,125	34,1	128,2	57,6	73,30	48,98	+1,95	0,108
Ydj1	703,6	746,5	631,9	694,00	57,90	656,2	806,9	524,4	662,50	141,36	-0,36	0,293	704,4	734,3	564,2	667,63	90,81	-0,42	0,168
Pre4	337,5	339,5	264,1	313,70	42,97	351,9	286	344,8	327,57	36,17	+0,43	0,377	393,5	298,8	400,4	364,23	56,77	+1,23	0,214
Htb2	1454,8	1394,6	1132	1327,13	171,65	1230,7	620,3	1219,9	1023,63	349,34	-1,35	0,176	1102,2	779,9	1189,6	1023,90	215,78	-1,90	0,131
Bmh1	923,1	890,5	771,7	861,77	79,68	1073,6	948,1	1093,5	1038,40	78,83	+2,73	0,075	1076,3	907,6	1220,3	1068,07	156,51	+2,03	0,123

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 3 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние МР на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	МР (контроль)					МР (МИК/2)							МР (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	49	58,2	80,5	62,57	16,20	86,3	68,4	80,3	78,33	9,11	+1,47	0,147	83,7	57,7	82,4	74,60	14,65	+0,95	0,200
His7	138,9	135,9	109,2	128,00	16,35	93,2	76,9	103,1	91,07	13,23	-3,04	0,073	81,6	63,1	84,6	76,43	11,64	-4,45	0,034
Trp3	92,9	95,9	76,6	88,47	10,39	120,3	94,5	122,1	112,30	15,44	+2,22	0,112	112,7	94,3	108,7	105,23	9,68	+2,05	0,115
Aro2	103,3	131,3	102,4	112,33	16,43	75,8	42,2	116,7	78,23	37,31	-1,45	0,187	81,4	69,1	111,4	87,30	21,76	-1,59	0,174
Lys1	386,9	442,9	294,8	374,87	74,78	201,6	156,1	128,3	162,00	37,00	-4,42	0,015	186,9	161,8	120,1	156,27	33,74	-4,62	0,010
Hom2	80,7	137,4	114,2	110,77	28,51	59,1	38,4	89	62,17	25,44	-2,20	0,097	42,1	17,7	84,4	48,07	33,75	-2,46	0,080
Aro3	74,8	91,4	75	80,40	9,53	85,6	72,1	111,7	89,80	20,13	+0,73	0,310	76,3	64,1	110	83,47	23,77	+0,21	0,440
Car1	454,2	500,4	294,8	416,47	107,87	392,6	251,8	239,8	294,73	84,97	-1,54	0,098	366,6	303,7	229,3	299,87	68,73	-1,58	0,051
Sam4	180,9	187,5	139,3	169,23	26,13	69,1	25,3	48,7	47,70	21,92	-6,17	0,015	53,1	28,9	62,4	48,13	17,29	-6,69	0,018
Sui2	-15,7	-29,1	8,2	-12,20	18,89	-24	-42,2	14,6	-17,20	29,00	-0,25	0,242	-25,7	-45,5	14,8	-18,80	30,74	-0,32	0,219
Gcv3	68,4	60,2	110,2	79,60	26,82	132,8	105,5	196,6	144,97	46,75	+2,10	0,016	143	111,7	204,6	153,10	47,27	+2,34	0,014
Rnr4	1164,2	1114,2	784,9	1021,10	206,08	2134,6	1468,6	635,3	1412,83	751,20	+0,87	0,175	2199,4	2694,6	643,5	1845,83	1070,28	+1,31	0,123
Pdc1	8951,5	9951,8	7801,1	8901,47	1076,22	10295,6	10338,5	7764,7	9466,27	1473,76	+0,54	0,150	9833,4	10503,5	6630,5	8989,13	2069,93	+0,07	0,452
Pyc2	147,6	161,9	120,5	143,33	21,03	120,1	98,1	80,3	99,50	19,94	-2,62	0,027	124,7	107,8	74	102,17	25,82	-2,14	0,024
Tps3	97,6	87,1	68,2	84,30	14,90	190,4	152,4	134,5	159,10	28,55	+4,02	0,007	196,3	183,1	110,9	163,43	45,97	+2,84	0,025
Tsl1	82,3	76,8	83,3	80,80	3,50	616,8	578,3	445,7	546,93	89,76	+8,99	0,006	670,9	682,4	424	592,43	145,98	+6,07	0,013
Pgm2	91,9	109,3	138,4	113,20	23,49	857,9	802,9	592,5	751,10	140,08	+7,78	0,011	974	982,6	577,1	844,57	231,67	+5,44	0,019
Ald4	92,2	98,2	128,4	106,27	19,40	398,2	320,1	485,7	401,33	82,84	+6,01	0,009	363,5	267,1	479,4	370,00	106,30	+4,23	0,019
Hxk1	488,2	602,3	786,1	625,53	150,30	3616,1	3972,1	2897,1	3495,10	547,62	+8,75	0,009	3687,4	3962,6	2768,5	3472,83	625,30	+7,67	0,011
Pda1	109,7	142,3	144	132,00	19,33	385	373,9	323	360,63	33,06	+10,34	0,007	355,8	365,5	294,8	338,70	38,33	+8,34	0,009
Idp1	117,9	142,1	129,7	129,90	12,10	247,5	227,6	237,5	237,53	9,95	+11,90	0,007	237,2	218,4	217	224,20	11,28	+9,87	0,009
Tal1	447,4	496	333,6	425,67	83,35	763,4	697,4	302,5	587,77	249,24	+1,07	0,127	699	687	353,7	579,90	195,99	+1,25	0,078
Hxt3	768	918,2	726,6	804,27	100,82	609,5	653,8	178,7	480,67	262,45	-1,99	0,054	577,1	730	120,8	475,97	316,94	1,71	0,071
Erg3	367,2	327,7	217,1	304,00	77,81	710,4	519,6	232,5	487,50	240,56	+1,26	0,096	545,9	580,9	247,2	458,00	183,40	+1,34	0,072
Pmi40	131,8	123	107,9	120,90	12,09	139	100,9	114,5	118,13	19,31	-0,21	0,401	104,7	76,7	72,8	84,73	17,40	-2,96	0,011
Hog1	80,1	80,2	72,9	77,73	4,19	108,4	88,9	84,4	93,90	12,76	+2,09	0,059	101,6	76,9	73,3	83,93	15,41	+0,67	0,253
Cwp1	115,7	181,4	150,7	149,27	32,87	45,6	25,1	80,9	50,53	28,23	-3,95	0,038	50,1	19,1	67,6	45,60	24,56	-4,38	0,037
Mdh2	156,9	167,5	127,4	150,60	20,78	121,8	99,1	94,9	105,27	14,47	-3,10	0,030	102,5	65,1	88,6	85,40	18,90	-4,02	0,038
Erg10	257,9	318,2	223,2	266,43	48,07	349,2	380,8	295,2	341,73	43,29	+2,02	0,006	272,1	317,8	249	279,63	35,01	+0,38	0,112
Lsc1	28,9	35,7	58,1	40,90	15,28	130,1	123,4	214,3	155,93	50,66	+3,77	0,016	120,4	116,2	195,1	143,90	44,39	+3,80	0,014
Pdr5	280,8	337,8	256,1	291,57	41,90	233,1	50,4	102,7	128,73	94,09	-2,74	0,072	280,9	160,2	52,9	164,67	114,07	-1,81	0,093
Dur1	-3,9	11,3	14,6	7,33	9,87	15,2	0,6	42,8	19,53	21,43	+0,90	0,204	6	-11,9	37	10,37	24,74	+0,20	0,422
Uga1	46,2	57,7	53,3	52,40	5,80	269,4	229,5	231,4	243,43	22,51	+14,24	0,004	338,9	366,4	231,1	312,13	71,51	+6,27	0,012
Gpd2	194,8	247,9	170,2	204,30	39,71	223,8	174,2	127,5	175,17	48,16	-0,81	0,220	227,2	206,3	134	189,17	48,91	-0,42	0,295

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p < 0,05)

Продолжение таблицы П. 3

Белки	МР (контроль)					МР (МИК/2)							МР (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	619	467,4	402,9	496,43	110,94	1456,3	1073,7	622,7	1050,90	417,27	+2,22	0,046	1429,6	1198,6	610,4	1079,53	422,38	+2,31	0,046
Ahp1	6901,3	6340,1	3609,8	5617,07	1760,85	13105,3	13351,5	7150,1	11202,30	3511,47	+2,46	0,017	13165,2	13878,2	7665,6	11569,67	3399,76	+2,69	0,014
Grx1	33,6	2,9	26,9	21,13	16,14	54,9	20,5	53,6	43,00	19,50	+1,50	0,007	53,5	16,2	46,7	38,80	19,87	+1,20	0,007
Uth1	-9,5	-21,3	5,1	-8,57	13,22	-18,4	-28,1	33,8	-4,23	33,29	+0,21	0,378	-26,9	-49,4	13,8	-20,83	32,03	-0,61	0,189
Yhb1	417,2	448,6	355,3	407,03	47,47	3698	3114	742,3	2518,10	1565,36	+2,33	0,069	3330	3541	621,2	2497,40	1628,26	+2,22	0,075
Tsa1	1654,2	1682,2	1407,8	1581,40	150,99	2413,2	2401,9	1866,8	2227,30	312,25	+3,23	0,010	2341,7	2478,1	1617,4	2145,73	462,60	+2,01	0,044
Sod1	1046,9	1058,8	745,6	950,43	177,49	4474,4	5851,1	3259,5	4528,33	1296,64	+4,74	0,016	4543	5191,8	4107,3	4614,03	545,73	+11,06	0,002
Trx2	346	172,6	205,1	241,23	92,17	1923,6	1775,8	1165,8	1621,73	401,71	+5,80	0,011	1861,1	1879,1	1187,1	1642,43	394,43	+5,99	0,012
Ssa2	8926,3	8761,8	7194,2	8294,10	956,09	7282	6804,2	6833,8	6973,33	267,72	-2,30	0,057	6194,3	6319,3	5592,8	6035,47	388,42	-3,79	0,011
Ssa1	13223,1	7692,7	6307,8	9074,53	3658,89	20950,9	19363,8	24718	21677,57	2750,07	+4,77	0,028	21139,6	20968,4	22498,5	21535,50	838,36	+5,75	0,018
Ssa4	42,1	53,9	51,4	49,13	6,22	547,8	886,1	919,7	784,53	205,70	+6,19	0,012	553	739,6	903,4	732,00	175,32	+6,74	0,010
Ypk1	54,4	82,3	51,2	62,63	17,11	77,5	40,9	62,9	60,43	18,42	-0,15	0,461	60,1	50,5	64,3	58,30	7,07	-0,41	0,392
Sti1	890	947,5	649,5	829,00	158,09	1052,7	1221,3	883,5	1052,50	168,90	+1,67	0,010	1044,5	1092,5	669,5	935,50	231,61	+0,66	0,067
Bat2	201	228,2	207,7	212,30	14,17	417,9	224,4	212,6	284,97	115,27	+1,08	0,210	458,6	369,6	201,1	343,10	130,78	+1,72	0,115
Tdh1	167,2	152,2	237,6	185,67	45,60	1814,4	2103,8	1189	1702,40	467,57	+5,59	0,018	2092,4	2315,2	1188,2	1865,27	596,85	+4,86	0,023
Hsp12	153,6	129,4	181,2	154,73	25,92	4698,8	6066,3	3555,8	4773,63	1256,92	+6,36	0,012	4973,9	5818	4843,7	5211,87	528,95	+16,54	0,002
Hsp104	431,3	396,9	360,1	396,10	35,61	1809,9	2201,6	1498,2	1836,57	352,46	+7,04	0,009	1881,4	2083,2	1636,5	1867,03	223,70	+11,25	0,003
Hsp78	101,2	64	66,4	77,20	20,82	490,4	499,1	398,6	462,70	55,68	+11,23	0,003	468,7	512,6	376	452,43	69,74	+8,93	0,006
Nth1	47,2	31,1	33	37,10	8,80	162,4	128,2	103,4	131,33	29,62	+5,28	0,009	162,3	158,2	104,2	141,57	32,43	+5,39	0,013
Sse1	165	184,3	119,4	156,23	33,33	65,3	25,3	54,8	48,47	20,74	-4,76	0,030	48,1	23,9	54,9	42,30	16,29	-5,32	0,027
Hsc82	4176,8	4075,5	2943,5	3731,93	684,68	3738,2	3230,3	3478,1	3482,20	253,97	-0,59	0,302	3316	3245,5	2879	3146,83	234,61	-1,40	0,077
Tps1	259,7	259,9	195,8	238,47	36,95	1165,2	968,5	676,9	936,87	245,68	+4,87	0,015	1356,7	1333,8	639,6	1110,03	407,57	+3,69	0,028
Nsr1	869,9	1111,4	760,8	914,03	179,42	315,1	239,9	258,9	271,30	39,10	-6,06	0,015	248,8	207,4	212,5	222,90	22,57	-6,62	0,012
Pgk1	6674	6596,9	4798,7	6023,20	1061,15	9371,7	8516,9	6341	8076,53	1562,60	+1,88	0,013	9726	8887,2	6049,7	8220,97	1926,58	+1,73	0,026
Hsp42	24,6	26,2	47,5	32,77	12,78	233,2	267,4	228,3	242,97	21,30	+14,65	0,003	259,3	269,8	212,1	247,07	30,73	+11,15	0,007
Aha1	197,2	171,8	151,9	173,63	22,71	431,9	426,5	325,7	394,70	59,82	+5,98	0,006	402,1	392,9	293,5	362,83	60,22	+5,09	0,008
Hsp26	19,8	2,7	44,1	22,20	20,80	404,1	518,6	534,4	485,70	71,11	+10,84	0,004	411,4	399,4	586,3	465,70	104,61	+7,20	0,006
Ydj1	817	752,8	617,7	729,17	101,73	823,4	809,2	718,9	783,83	56,68	+0,81	0,092	763,7	738,3	619,7	707,23	76,86	-0,30	0,156
Pre4	370,6	350	258,4	326,33	59,73	496,6	495,7	300,9	431,07	112,73	+1,42	0,040	453,5	437,5	293,8	394,93	87,95	+1,12	0,027
Htb2	1381,8	1514,8	1059,6	1318,73	234,06	942,3	705,3	817,3	821,63	118,56	-3,28	0,048	840,9	745,2	625,3	737,13	108,03	-3,91	0,014
Bmh1	891,7	944,6	709,4	848,57	123,39	1482,6	1318,7	1017,3	1272,87	236,01	+2,76	0,019	1423,5	1339,4	954,7	1239,20	249,95	+2,43	0,021

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 4 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние туникамицина на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	Туникамицин (контроль)					Туникамицин (МИК/2)							Туникамицин (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	52,4	79,8	65,3	65,83	13,71	72,3	52,5	44,1	56,30	14,48	-0,83	0,293	70,5	84,7	36,2	63,80	24,93	-0,12	0,449
His7	113,3	104	91,1	102,80	11,15	102,3	91,9	71,4	88,53	15,72	-1,28	0,017	82,6	88,3	48,8	73,23	21,35	-2,13	0,031
Trp3	91,4	156	67,6	105,00	45,74	159,2	137,3	120,3	138,93	19,50	+1,18	0,166	148,5	135,3	110,4	131,40	19,35	+0,92	0,192
Aro2	104,8	102,8	105,8	104,47	1,53	117,9	115,5	88,5	107,30	16,33	+0,30	0,402	126,1	116,3	94,5	112,30	16,18	+0,84	0,255
Lys1	297,1	266,7	293,6	285,80	16,63	246,1	219,8	194,4	220,10	25,85	-3,70	0,030	229,1	206,1	170,1	201,77	29,74	-4,27	0,026
Hom2	106,9	138,8	118,9	121,53	16,11	132,2	143	111,4	128,87	16,06	+0,56	0,262	108,8	115,4	102,3	108,83	6,55	-1,26	0,117
Aro3	78,5	136,9	73,8	96,40	35,15	149,9	184,4	113,8	149,37	35,30	+1,84	0,015	147,4	128,7	108,1	128,07	19,66	+1,36	0,146
Car1	296	651,9	300,7	416,20	204,14	616,7	646,2	558,5	607,13	44,63	+1,58	0,098	473,5	493	567,5	511,33	49,61	+0,78	0,270
Sam4	159,7	109,9	122,8	130,80	25,85	106,3	108,9	55,5	90,23	30,11	-1,77	0,091	92,6	77,2	42,4	70,73	25,72	-2,85	0,026
Sui2	2,1	12,4	-14,3	0,07	13,47	2,8	31,4	-23,1	3,70	27,26	+0,21	0,350	-0,1	7,4	-29,7	-7,47	19,62	-0,55	0,101
Gcv3	79,5	254,5	86,1	140,03	99,19	123,1	268,7	119,5	170,43	85,12	+0,40	0,036	129	209,6	98,8	145,80	57,28	+0,09	0,427
Rnr4	887	984,1	787,7	886,27	98,20	1136	1058	1046,8	1080,27	48,59	+3,07	0,042	973,7	957,6	898,8	943,37	39,43	+0,93	0,155
Pdc1	7580,4	9740,8	7521,2	8280,80	1264,74	11809,9	11020,5	10308,1	11046,17	751,23	+3,26	0,042	10948,9	10019,9	10814,5	10594,43	502,08	+2,94	0,075
Pyc2	126,7	135,4	117,4	126,50	9,00	144,6	139,6	119,9	134,70	13,06	+0,90	0,117	136,6	125,5	105	122,37	16,03	-0,39	0,309
Tps3	80,5	143,1	53,9	92,50	45,79	162,9	151,3	130,2	148,13	16,58	+1,98	0,072	183,8	150,9	132,2	155,63	26,12	+2,07	0,079
Tsl1	83,6	334,7	107,1	175,13	138,69	530,5	539	499,4	522,97	20,85	+4,30	0,021	602,6	510,7	511,6	541,63	52,80	+4,28	0,034
Pgm2	110,5	394,1	179,4	228,00	147,91	552,2	570	567,3	563,17	9,59	+3,92	0,027	640,6	551	545,1	578,90	53,52	+3,86	0,042
Ald4	118	237,3	136	163,77	64,31	396	361,3	334,9	364,07	30,64	+4,87	0,023	453,8	370,2	352,4	392,13	54,14	+4,70	0,030
Hxk1	539,5	1376,6	1051,7	989,27	422,03	2130,1	2386,5	2752,9	2423,17	313,01	+4,73	0,011	2487,2	2386,8	2436	2436,67	50,20	+5,90	0,017
Pda1	119	379,1	160,8	219,63	139,67	469,5	480,6	448,4	466,17	16,36	+3,04	0,040	553,8	511,1	474,7	513,20	39,59	+3,50	0,040
Idp1	127,5	245,6	138,8	170,63	65,17	288,8	315,2	244,9	282,97	35,51	+2,62	0,026	308,8	293,1	260,3	287,40	24,75	+2,90	0,047
Tal1	357,1	679,7	380,6	472,47	179,85	837,6	771,1	761,8	790,17	41,34	+2,98	0,056	891,2	815,3	756,8	821,10	67,39	+3,14	0,047
Hxt3	712,3	656,6	686,4	685,10	27,87	672,1	612,7	503,7	596,17	85,41	-1,71	0,099	401,6	409,9	379,5	397,00	15,71	-15,60	0,003
Erg3	259,3	253,7	264,2	259,07	5,25	268,3	273,8	239	260,37	18,71	+0,12	0,466	250	259,2	231,9	247,03	13,89	-1,40	0,194
Pmi40	103,8	258,7	94,8	152,43	92,14	389,2	376	381,2	382,13	6,65	+4,31	0,027	460,8	399,5	377,7	412,67	43,09	+4,43	0,027
Hog1	71,4	109,4	54,1	78,30	28,29	143,8	138,9	113,2	131,97	16,44	+2,84	0,026	153,4	138,3	108,6	133,43	22,79	+2,63	0,035
Cwp1	144	350,4	176,7	223,70	110,94	374,4	327,8	340,5	347,57	24,09	+1,89	0,122	197,4	266,5	255	239,63	37,02	+0,24	0,391
Mdh2	200	283	192	225,00	50,39	225,6	276,6	245,3	249,17	25,72	+0,74	0,148	222	248,5	198,3	222,93	25,11	-0,06	0,457
Erg10	243,3	325	238,8	269,03	48,52	393,9	385,2	388,1	389,07	4,43	+4,27	0,028	392,5	354,6	370,4	372,50	19,04	+3,44	0,055
Lsc1	57,1	146,9	61,9	88,63	50,52	222,1	258,6	207,7	229,47	26,24	+4,29	0,006	257,6	261,6	226,3	248,50	19,33	+5,12	0,012
Pdr5	304,9	461,2	265,9	344,00	103,35	459,3	419,4	442,8	440,50	20,05	+1,59	0,150	354,5	372,5	387,2	371,40	16,38	+0,45	0,350
Dur1	20,1	46,6	10,2	25,63	18,82	30,2	18,4	24	24,20	5,90	-0,13	0,462	26,6	30,5	5,9	21,00	13,22	-0,35	0,276
Uga1	79,2	227,9	82,4	129,83	84,94	344,4	413,6	370,6	376,20	34,94	+4,65	0,008	451,4	424,9	391,1	422,47	30,22	+5,62	0,015
Gpd2	196,8	223,7	184,3	201,60	20,13	271,4	247,4	234,8	251,20	18,59	+3,13	0,039	244,5	229,9	210,7	228,37	16,95	+1,76	0,078

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 4

Белки	Туникамицин (контроль)					Туникамицин (МИК/2)							Туникамицин (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	492	1871,6	371,9	911,83	833,35	2333,8	2076,6	2109,6	2173,33	139,94	+2,59	0,070	2158,3	1831,6	1955,4	1981,77	164,94	+2,18	0,097
Ahp1	3714,8	3272,4	3937,3	3641,50	338,46	4388,4	4124,4	4211,00	4241,27	134,58	+2,85	0,036	5283,5	4853,7	4364,9	4834,03	459,62	+3,62	0,045
Grx1	19,7	29,1	3,3	17,37	13,06	42,9	13,3	33,10	29,77	15,08	+1,08	0,238	54	43,8	25,7	41,17	14,33	+2,13	0,026
Uth1	-2,3	-19,5	-20,9	-14,23	10,36	-16,6	-49,6	-27,90	-31,37	16,77	-1,51	0,064	-15	-21,6	-32,3	-22,97	8,73	-1,12	0,060
Yhb1	430,1	167,4	341,1	312,87	133,61	129,8	163,9	172,50	155,40	22,58	-2,01	0,104	124,1	169	125,9	139,67	25,42	-2,21	0,099
Tsa1	1465,6	3264,4	1503	2077,67	1027,91	3521,4	3827,3	3584,20	3644,30	161,56	+2,61	0,045	4308,3	4060,6	3799,7	4056,20	254,33	+3,24	0,042
Sod1	880,1	758,3	867,3	835,23	66,93	810	790,7	768,20	789,63	20,92	-1,13	0,186	826,5	747,1	784,5	786,03	39,72	-1,09	0,071
Trx2	75,5	-17,1	194,8	84,40	106,23	-32,8	-34,1	-26,60	-31,17	4,01	-1,88	0,095	-30,3	-34	-41,3	-35,20	5,60	-1,95	0,101
Ssa2	7372,9	6826,1	6470	6889,67	454,79	7008,7	6163,1	6578,70	6583,50	422,82	-0,85	0,153	7138,1	5879,8	6221,7	6413,20	650,64	-1,04	0,090
Ssa1	7124,4	10475,5	6900,5	8166,80	2002,52	13086	12772,5	12879,10	12912,53	159,40	+4,09	0,030	17208,2	13934,4	14422,6	15188,40	1766,15	+4,55	0,034
Ssa4	41,3	103,7	52,1	65,70	33,35	215,7	162,9	186,40	188,33	26,45	+4,99	0,034	381,6	264,7	218	288,10	84,27	+4,25	0,032
Ypk1	51,9	128,5	48,5	76,30	45,24	143,7	125,5	117,70	128,97	13,34	+1,93	0,103	148,4	142	118,7	136,37	15,63	+2,17	0,067
Sti1	695,7	833,4	639,9	723,00	99,60	974,9	979	943,50	965,80	19,42	+4,14	0,019	1117,5	1066,1	971,5	1051,70	74,06	+4,59	0,013
Bat2	189,2	173,6	215,2	192,67	21,02	154,5	193,6	180,00	176,03	19,85	-1,00	0,230	145,7	168,8	162,4	158,97	11,93	2,42	0,074
Tdh1	149,4	339,9	187,2	225,50	100,86	729,6	807,8	677,80	738,40	65,45	+7,39	0,002	1069	818,5	707,3	864,93	185,27	+5,25	0,023
Hsp12	105,9	958,8	241,6	435,43	458,30	1875,5	2104,1	2558,40	2179,33	347,61	+5,25	0,018	3916,4	2682,7	2867,5	3155,53	665,38	+5,83	0,023
Hsp104	335,5	1136,7	333,5	601,90	463,15	1295,5	1358,1	1341,70	1331,77	32,46	+2,72	0,052	1792,4	1486,6	1429,3	1569,43	195,21	+3,33	0,049
Hsp78	64	158,8	66,5	96,43	54,03	280,5	340,2	292,60	304,43	31,56	+5,76	0,002	387,7	362,9	359,3	369,97	15,46	+8,43	0,008
Nth1	32	123,9	42,5	66,13	50,30	134,1	168,4	134,60	145,70	19,66	+2,55	0,023	178,2	149,7	229,8	185,90	40,60	+3,21	0,066
Sse1	134,4	87,9	133,4	118,57	26,56	85,1	94,1	61,60	80,27	16,78	-2,11	0,120	66,3	67,6	59,1	64,33	4,58	-3,48	0,043
Hsc82	3078,7	2947	2958,5	2994,73	72,94	3278,9	3175,2	2981,30	3145,13	151,06	+1,55	0,072	3278,6	2951,4	2947,8	3059,27	189,96	+0,55	0,221
Tps1	196,4	607	211,1	338,17	232,93	755,9	755,7	773,80	761,80	10,39	+3,15	0,046	933,3	770,3	770,5	824,70	94,05	+3,35	0,052
Nsr1	794,5	541,4	767,4	701,10	138,97	422,5	432,3	351,90	402,23	43,86	-3,55	0,045	258,3	275,4	266,1	266,60	8,56	-5,41	0,018
Pgk1	4939,8	6495,6	4711,7	5382,37	970,81	8274,1	8040,5	8013,70	8109,43	143,23	+4,81	0,022	9255,6	8037,8	8356,5	8549,97	631,53	+4,74	0,032
Hsp42	25	255	58	112,67	124,36	285,1	336,2	322,10	314,47	26,39	+2,75	0,039	381	359,5	355,5	365,33	13,71	+3,50	0,040
Aha1	113,1	204,2	124,3	147,20	49,68	324,4	325,6	306,10	318,70	10,93	+5,84	0,011	466,1	308,1	371,9	382,03	79,49	+4,34	0,041
Hsp26	19,5	76,2	8,4	34,70	36,37	129,5	128	92,30	116,60	21,06	+3,38	0,020	269,7	180,3	154,8	201,60	60,34	+4,10	0,031
Ydj1	595,5	662,1	590,9	616,17	39,85	891,6	924	833,60	883,07	45,80	+7,62	0,002	1096,2	900,9	823,4	940,17	140,58	+3,84	0,033
Pre4	248,4	331,2	227,5	269,03	54,84	513,6	447,6	387,20	449,47	63,22	+3,73	0,028	547,7	428,4	397,6	457,90	79,28	+3,39	0,043
Htb2	1097,6	846,2	1102,2	1015,33	146,49	838,5	775,4	781,40	798,43	34,83	-2,49	0,051	816,5	719,4	728,1	754,67	53,73	-2,89	0,034
Bmh1	712,5	1354,8	778,7	948,67	353,28	1629,2	1586,3	1599,90	1605,13	21,92	+3,21	0,046	1794,6	1621,7	1550,6	1655,63	125,49	+3,27	0,048

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t: t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p < 0,05)

Таблица П 5 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние Микозидина на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	Микозидин (контроль)					Микозидин (МИК/2)							Микозидин (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	66,4	148,7	58,4	91,17	49,99	98,1	112,1	90,9	100,37	10,78	+0,31	0,363	180,6	233,6	149	187,73	42,75	+2,54	0,004
His7	132,5	264,1	116,8	171,13	80,89	123,8	139,9	146,7	136,80	11,76	-0,73	0,268	63,4	93,4	111,5	89,43	24,29	-1,68	0,116
Trp3	99,9	117,7	85,2	100,93	16,27	143,7	161,9	138,3	147,97	12,37	+3,99	0,002	80	96,2	122,5	99,57	21,45	-0,09	0,475
Aro2	128,3	118,8	102,5	116,53	13,05	123,5	106,7	110,2	113,47	8,86	-0,34	0,324	45,1	66,5	64,2	58,60	11,75	-5,72	0,024
Lys1	432,6	244,7	266,4	314,57	102,79	425,5	387,7	325,5	379,57	50,49	+0,98	0,137	188,4	150,4	164,6	167,80	19,20	-2,43	0,047
Hom2	162,7	135,3	93,7	130,57	34,74	181	143,8	159,9	161,57	18,66	+1,36	0,112	71,4	89,3	72,1	77,60	10,14	-2,53	0,061
Aro3	86,2	92,4	62,5	80,37	15,78	142	148,5	118,5	136,33	15,78	+4,34	0,000	94,2	117,6	93,5	101,77	13,72	+1,77	0,045
Car1	542,9	477,6	197,5	406,00	183,49	582	587	358,5	509,17	130,51	+0,79	0,050	225,3	278,3	180,1	227,90	49,15	-1,62	0,089
Sam4	182,3	186,9	146,7	171,97	22,00	101,4	82,1	102,6	95,37	11,50	-5,34	0,025	46,3	53,9	57,7	52,63	5,80	-9,08	0,008
Sui2	-5	-4,9	4,5	-1,80	5,46	-14,6	-3,8	10,4	-2,67	12,54	-0,11	0,434	-4	11,8	22,1	9,97	13,15	+1,43	0,080
Gcv3	96	107,1	84	95,70	11,55	194,9	202,6	142,5	180,00	32,70	+4,21	0,011	410,9	409,8	204,4	341,70	118,91	+3,57	0,030
Rnr4	1024,4	1162,3	777,8	988,17	194,79	1155,7	1216,8	962,8	1111,77	132,58	+0,91	0,041	840,3	849,8	708,4	799,50	79,04	-1,55	0,058
Pdc1	9933	9892,4	7561,3	9128,90	1357,73	7718,3	6591,9	8851,7	7720,63	1129,90	-1,38	0,208	1608,4	1944,8	4463,3	2672,17	1560,26	-5,41	0,031
Pyc2	161,4	157,7	136,1	151,73	13,66	143,3	192,8	175,5	170,53	25,12	+1,14	0,208	116,2	216	169,9	167,37	49,95	+0,52	0,333
Tps3	88,8	104	85,1	92,63	10,02	127	138,6	128,6	131,40	6,29	+5,68	0,002	113,9	129,4	139	127,43	12,67	+3,73	0,034
Tsl1	46,3	52,4	80	59,57	17,96	347,1	388,4	241,5	325,67	75,76	+5,92	0,019	446,7	448,7	396,9	430,77	29,35	+18,69	0,003
Pgm2	67,6	48,2	122,7	79,50	38,65	517,5	579,2	408	501,57	86,71	+7,70	0,014	784,9	699,5	729,5	737,97	43,32	+19,64	0,001
Ald4	108,3	87,2	82,8	92,77	13,63	273,7	356,9	131,1	253,90	114,19	+2,43	0,064	547,5	609,6	169,3	442,13	238,31	+2,54	0,060
Hxk1	413,2	261,1	691,7	455,33	218,37	2329,9	2441,3	1764	2178,40	363,18	+7,04	0,018	3485,3	3103,3	3185,4	3258,00	201,08	+16,35	0,002
Pda1	106,8	93,6	101,2	100,53	6,63	220,3	282,8	168,6	223,90	57,19	+3,71	0,037	225,5	273,5	200,1	233,03	37,28	+6,06	0,016
Idp1	117,9	109,5	101	109,47	8,45	226,4	272,2	171	223,20	50,68	+3,83	0,026	220,3	280	194,2	231,50	43,98	+4,72	0,019
Tal1	442,8	416,6	248,7	369,37	105,32	557,7	597,3	412	522,33	97,58	+1,85	0,008	326,2	346	263,4	311,87	43,13	-0,88	0,137
Hxt3	777,7	778,2	532,3	696,07	141,83	1458,7	1571,8	1176,6	1402,37	203,53	+4,93	0,002	110,1	95,9	198,2	134,73	55,42	-6,39	0,019
Erg3	246,2	237	171	218,07	41,02	124,7	132	137,9	131,53	6,61	-3,61	0,043	26,5	47,9	51,7	42,03	13,59	-7,06	0,014
Pmi40	127,2	122,4	118,5	122,70	4,36	153,2	154,9	155,2	154,43	1,08	+12,24	0,005	91,3	116,3	141,6	116,40	25,15	-0,43	0,373
Hog1	95,5	91,1	86,4	91,00	4,55	82,2	97,4	105,8	95,13	11,96	+0,56	0,353	55,5	88	113,1	85,53	28,88	-0,32	0,402
Cwp1	91	106	221,2	139,40	71,24	89,3	106,5	148,8	114,87	30,62	-0,55	0,207	47,9	94	100,4	80,77	28,64	-1,32	0,106
Mdh2	148,3	161,3	139,5	149,70	10,97	163,3	205,2	140	169,50	33,04	+0,99	0,130	119,5	169,8	72,7	120,67	48,56	-1,01	0,157
Erg10	299,2	282,4	184,4	255,33	62,00	236,5	270,1	180,3	228,97	45,37	-0,59	0,143	122,7	173,5	123,5	139,90	29,10	-2,92	0,038
Lsc1	39,2	35,1	29,7	34,67	4,76	108,4	134,5	63,3	102,07	36,02	+3,21	0,036	143,5	156	66,8	122,10	48,30	+3,12	0,038
Pdr5	401	417,2	220,5	346,23	109,19	1316,2	1382,6	872,9	1190,57	277,10	+4,91	0,006	96,7	93,5	219,9	136,70	72,07	-2,77	0,092
Dur1	35,2	35,7	15,2	28,70	11,69	26,1	43,8	50,4	40,10	12,57	+1,15	0,235	33,2	54,9	32,8	40,30	12,65	+1,17	0,115
Uga1	35	40,8	53,3	43,03	9,35	189,6	194,5	142,8	175,63	28,54	+7,65	0,013	181,4	193,9	175,3	183,53	9,48	+18,27	0,002
Gpd2	236,3	209,4	167,4	204,37	34,72	218,2	209,1	215,8	214,37	4,72	+0,49	0,332	119,5	110,7	114,8	115,00	4,40	-4,42	0,021

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 5

Белки	Микозидин (контроль)					Микозидин (МИК/2)							Микозидин (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	417,8	571,4	404,8	464,67	92,66	660,7	691,7	607,1	653,17	42,80	+3,20	0,017	470,8	385	527	460,93	71,51	-0,06	0,486
Ahp1	5680,8	5650,9	2254,3	4528,67	1969,72	7097,8	7525	3894,2	6172,33	1984,45	+1,02	0,003	2206,4	1312	1929,7	1816,03	457,91	-2,32	0,078
Grx1	22,6	20,8	25,2	22,87	2,21	17,6	21,5	38	25,70	10,83	+0,44	0,322	23,2	31,6	48,7	34,50	12,99	+1,53	0,111
Uth1	-2,1	-2,1	1,2	-1,00	1,91	-22,7	-14,6	7,6	-9,90	15,69	-0,98	0,191	-6,5	6,9	16,6	5,67	11,60	+0,98	0,186
Yhb1	520,8	448,8	283,4	417,67	121,72	377,1	348,5	296,3	340,63	40,97	-1,04	0,120	377	366,8	218,9	320,90	88,48	-1,11	0,028
Tsa1	1664,6	1647,3	1515,1	1609,00	81,78	1792,6	1975,5	1173,4	1647,17	420,36	+0,15	0,433	1236,9	1216,9	1068,4	1174,07	92,05	-6,12	0,000
Sod1	988,5	1027,3	862,4	959,40	86,22	1215,5	1314,2	806,3	1112,00	269,30	+0,93	0,143	888,8	909,7	744,8	847,77	89,78	-1,55	0,001
Trx2	238	317,5	250,6	268,70	42,73	35	21,2	300,5	118,90	157,42	-1,59	0,142	27,7	29,6	351,9	136,40	186,63	-1,20	0,191
Ssa2	10160,6	11184,7	6603,3	9316,20	2404,59	4961	4989,2	4675,5	4875,23	173,55	-3,19	0,037	3955,7	4005,4	3801,3	3920,80	106,43	-3,88	0,028
Ssa1	7383,5	7574,2	5699,3	6885,67	1031,84	13540,6	12365,7	11745,1	12550,47	911,90	+7,13	0,003	11366	8928	8105,6	9466,53	1695,60	+2,25	0,039
Ssa4	29,5	27,1	60,6	39,07	18,69	143,7	139,8	176,7	153,40	20,27	+7,18	0,000	175,1	166,5	321,4	221,00	87,06	+3,54	0,022
Ypk1	71,6	78,4	51,3	67,10	14,10	68,6	75,1	68,2	70,63	3,87	+0,42	0,325	57,7	60,6	63,4	60,57	2,85	-0,79	0,279
Sti1	956,7	942,9	556,3	818,63	227,29	696,2	678,3	483,6	619,37	117,92	-1,35	0,044	514,6	458,5	454,6	475,90	33,57	-2,58	0,053
Bat2	222,5	197,6	178,6	199,57	22,02	272	229	200,7	233,90	35,90	+1,41	0,025	248,8	203,1	156,2	202,70	46,30	+0,11	0,422
Tdh1	111,4	69,7	217,7	132,93	76,31	860,6	887,6	912,7	886,97	26,06	+16,20	0,001	1412,2	1200,5	1657,1	1423,27	228,50	+9,28	0,002
Hsp12	51,5	35,5	146,1	77,70	59,77	1737,7	1898,6	791,7	1476,00	598,06	+4,03	0,033	829,2	765,3	1271,7	955,40	275,78	+5,39	0,010
Hsp104	348,5	352,4	347,5	349,47	2,59	948,7	1017,2	567,3	844,40	242,41	+3,54	0,035	842,1	722	856,7	806,93	73,92	+10,71	0,005
Hsp78	59,4	57,9	58,2	58,50	0,79	163,4	163,9	69,4	132,23	54,42	+2,35	0,071	206,3	147,4	119,1	157,60	44,49	+3,86	0,030
Nth1	32,3	39,8	37,4	36,50	3,83	82,6	96	63,7	80,77	16,23	+4,60	0,020	71,1	69,8	80	73,63	5,55	+9,54	0,005
Sse1	152,2	153,6	95,7	133,83	33,03	203,3	205,9	134,1	181,10	40,72	+1,56	0,004	68,5	79,9	68	72,13	6,73	-3,17	0,035
Hsc82	4185,6	4285,6	2846,6	3772,60	803,50	2641,6	2764,2	1934,1	2446,63	448,08	-2,50	0,012	1828	1836,9	1631,5	1765,47	116,10	4,28	0,018
Tps1	188	194,7	204,6	195,77	8,35	580,1	614,2	412,4	535,57	108,02	+5,43	0,018	615,5	638,3	680,6	644,80	33,03	+22,83	0,001
Nsr1	973,9	958,3	738,4	890,20	131,69	617	575,3	530,6	574,30	43,21	-3,95	0,014	184,8	192,6	162,5	179,97	15,62	-9,28	0,004
Pgk1	6317,3	6256,9	4465,4	5679,87	1052,19	8434,5	8747,1	6569,8	7917,13	1177,25	+2,45	0,002	5461,1	5124,2	4812,9	5132,73	324,18	-0,86	0,176
Hsp42	32,3	27	30,4	29,90	2,69	167,4	145,9	91,3	134,87	39,23	+4,62	0,022	171,3	171	168,6	170,30	1,48	+79,32	0,000
Aha1	197,4	151,5	147	165,30	27,89	208,6	222,7	173,5	201,60	25,34	+1,67	0,091	160,1	178,5	189,8	176,13	14,99	+0,59	0,351
Hsp26	8	3	22,6	11,20	10,18	32,7	32,7	49,8	38,40	9,87	+3,32	0,001	97	111,3	128,5	112,27	15,77	+9,32	0,002
Ydj1	795,9	837,3	578,2	737,13	139,19	559,4	578,7	451	529,70	68,84	-2,31	0,018	319,6	357,8	302,5	326,63	28,31	-5,01	0,013
Pre4	309,4	317,6	240,1	289,03	42,58	390,5	418	286,9	365,13	69,13	+1,62	0,020	237,1	242,8	265,9	248,60	15,25	-1,55	0,173
Htb2	1413,4	1333	1016	1254,13	210,11	1291,8	1254,3	938,6	1161,57	194,00	-0,56	0,012	909,7	784,7	528,1	740,83	194,55	-3,10	0,001
Bmh1	827,1	833,2	617,9	759,40	122,58	1109,1	1210,2	836,6	1051,97	193,24	+2,21	0,012	944,3	824,1	766	844,80	90,93	+0,97	0,109

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 6 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние ЗВ-Мус на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки:	ЗВ-Мус (контроль)					ЗВ-Мус (МИК/2)							ЗВ-Мус (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	78,3	57,6	49,8	61,90	14,73	96,1	76,2	56,4	76,23	19,85	+1,00	0,033	157,9	108,7	81,2	115,93	38,86	+2,25	0,030
His7	118	124,2	114	118,73	5,14	134,9	134,2	121,7	130,27	7,43	+2,21	0,026	114,3	142,9	143,4	133,53	16,66	+1,47	0,134
Trp3	94,6	101,7	88,2	94,83	6,75	144	124,8	108,1	125,63	17,96	+2,78	0,041	131,8	155,5	160,1	149,13	15,19	+5,66	0,016
Aro2	105,1	116,7	111,5	111,10	5,81	122,6	131,9	124,1	126,20	4,99	+3,41	0,004	80,9	134,2	129,9	115,00	29,61	+0,22	0,404
Lys1	330,9	386,2	299,8	338,97	43,76	361,8	401,5	303,3	355,53	49,40	+0,43	0,086	206,8	355,5	297,3	286,53	74,93	-1,05	0,145
Hom2	104	121	120,4	115,13	9,65	147,4	149,4	150,6	149,13	1,62	+6,02	0,009	92,6	146,6	191,1	143,43	49,33	+0,98	0,178
Aro3	80,8	85,1	62,8	76,23	11,83	127,2	113,3	83,3	107,93	22,44	+2,16	0,027	148,9	127,9	124,1	133,63	13,36	+5,57	0,008
Car1	483,3	499,5	333,8	438,87	91,35	657,2	741	498,7	632,30	123,05	+2,19	0,008	349,5	700	575,8	541,77	177,71	+0,89	0,239
Sam4	162,5	168,1	142,3	157,63	13,57	104,3	136,1	116,7	119,03	16,03	-3,18	0,030	60,4	96,8	81,9	79,70	18,30	-5,92	0,012
Sui2	0,9	-9,7	-3,5	-4,10	5,33	5,4	-23,1	-3,7	-7,13	14,56	-0,34	0,314	1,6	-12,6	2,8	-2,73	8,57	+0,23	0,330
Gcv3	119,1	100,4	70,6	96,70	24,46	208,6	150,4	88,1	149,03	60,26	+1,39	0,064	429,9	203,2	130,8	254,63	156,04	+1,73	0,089
Rnr4	1133	1212	940,3	1095,10	139,76	1264	1113,9	956,2	1111,37	153,92	+0,14	0,414	953,8	1222,3	999,2	1058,43	143,72	-0,32	0,332
Pdc1	8830,2	8942,9	7375,6	8382,90	874,17	11022,7	10801,3	9489,4	10437,80	828,76	+2,95	0,001	2283,5	11737,5	9641,7	7887,57	4965,10	-0,17	0,443
Pyc2	134,3	161,8	141,7	145,93	14,23	174,7	161,6	144,2	160,17	15,30	+1,18	0,195	177,9	210,1	199,7	195,90	16,43	+3,98	0,004
Tps3	88,6	79,1	73,1	80,27	7,82	136,2	97,9	92,8	108,97	23,72	+1,99	0,047	145,3	161,8	155,7	154,27	8,34	+11,21	0,007
Tsl1	70,8	59,8	83,9	71,50	12,07	323,3	170,2	153,1	215,53	93,72	+2,64	0,061	482,6	383,6	407,6	424,60	51,64	+11,53	0,003
Pgm2	70,5	87,1	135,4	97,67	33,72	412,7	215,4	224	284,03	111,51	+2,77	0,071	711,1	467,9	586,7	588,57	121,61	+6,74	0,012
Ald4	83,3	109,2	107,1	99,87	14,39	203,3	161,8	135,4	166,83	34,23	+3,12	0,067	396,6	287,7	263,4	315,90	70,94	+5,17	0,024
Hxk1	426,9	497,4	690,5	538,27	136,47	1932,2	1010,6	1131,8	1358,20	500,78	+2,74	0,070	3487,8	2041,4	2644,7	2724,63	726,51	+5,12	0,020
Pda1	94,8	117,2	136	116,00	20,63	236,6	172,1	178,8	195,83	35,46	+3,37	0,062	288,1	264,3	323,7	292,03	29,89	+8,39	0,003
Idp1	92,2	122,1	139,3	117,87	23,83	222	170,1	174	188,70	28,90	+3,27	0,070	319,5	240,3	261	273,60	41,08	+5,68	0,024
Tal1	382,6	418	354,8	385,13	31,68	500,3	475	434,9	470,07	32,98	+3,22	0,020	401,4	560,1	530,8	497,43	84,45	+2,16	0,072
Hxt3	637,1	718,4	640,8	665,43	45,91	1235,8	1247	1066,5	1183,10	101,13	+8,07	0,005	705,8	1499,2	1242,2	1149,07	404,82	+2,06	0,076
Erg3	219,4	234,2	255	236,20	17,88	161	184	188,8	177,93	14,86	-4,34	0,003	41,6	185,1	154,6	127,10	75,60	-2,43	0,050
Pmi40	106,7	119,7	103,9	110,10	8,43	144,9	123,1	118,3	128,77	14,18	+1,96	0,105	114,6	165,1	152,4	144,03	26,27	+2,13	0,061
Hog1	85,6	86,4	75,5	82,50	6,08	78,2	77,3	73,6	76,37	2,44	-1,62	0,053	76,5	94,2	89,4	86,70	9,15	+0,66	0,302
Cwp1	87,1	65	72,4	74,83	11,25	56,7	83,6	94,4	78,23	19,41	+0,26	0,430	56,1	78	84,3	72,80	14,80	-0,19	0,451
Mdh2	120,5	150,6	155,4	142,17	18,92	122	141,5	130,2	131,23	9,79	-0,89	0,147	160,4	137,9	149,8	149,37	11,26	+0,57	0,352
Erg10	243,2	270	243,3	252,17	15,44	215,9	238,9	239,2	231,33	13,37	-1,77	0,066	182	248,4	250	226,80	38,81	-1,05	0,163
Lsc1	31,3	36,9	57,2	41,80	13,63	93,8	49,6	67,6	70,33	22,23	+1,90	0,118	144,5	86,7	156,7	129,30	37,39	+3,81	0,023
Pdr5	332,1	365,6	306,8	334,83	29,50	943,3	950,1	748,6	880,67	114,42	+8,00	0,005	468,1	1143,3	741	784,13	339,66	+2,28	0,068
Dur1	33,6	12,2	9,7	18,50	13,14	47,8	26,3	19,5	31,20	14,77	+1,11	0,006	36,5	47,2	38,1	40,60	5,77	+2,67	0,076
Uga1	43,7	44,6	66,4	51,57	12,85	150,6	93	110,8	118,13	29,49	+3,58	0,041	229,7	187,3	278,6	231,87	45,69	+6,58	0,006
Gpd2	192	207,9	191,1	197,00	9,45	215,2	205	185,4	201,87	15,15	+0,47	0,325	155,5	225,3	205,8	195,53	36,01	-0,07	0,470

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 6

Белки	ЗВ-Мус (контроль)					ЗВ-Мус (МИК/2)							ЗВ-Мус (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	417,8	571,4	404,8	464,67	92,66	660,7	691,7	607,1	653,17	42,80	+3,20	0,017	470,8	385	527	460,93	71,51	-0,06	0,486
Ahp1	5680,8	5650,9	2254,3	4528,67	1969,72	7097,8	7525	3894,2	6172,33	1984,45	+1,02	0,003	2206,4	1312	1929,7	1816,03	457,91	-2,32	0,078
Grx1	22,6	20,8	25,2	22,87	2,21	17,6	21,5	38	25,70	10,83	+0,44	0,322	23,2	31,6	48,7	34,50	12,99	+1,53	0,111
Uth1	-2,1	-2,1	1,2	-1,00	1,91	-22,7	-14,6	7,6	-9,90	15,69	-0,98	0,191	-6,5	6,9	16,6	5,67	11,60	+0,98	0,186
Yhb1	520,8	448,8	283,4	417,67	121,72	377,1	348,5	296,3	340,63	40,97	-1,04	0,120	377	366,8	218,9	320,90	88,48	-1,11	0,028
Tsa1	1664,6	1647,3	1515,1	1609,00	81,78	1792,6	1975,5	1173,4	1647,17	420,36	+0,15	0,433	1236,9	1216,9	1068,4	1174,07	92,05	-6,12	0,000
Sod1	988,5	1027,3	862,4	959,40	86,22	1215,5	1314,2	806,3	1112,00	269,30	+0,93	0,143	888,8	909,7	744,8	847,77	89,78	-1,55	0,001
Trx2	238	317,5	250,6	268,70	42,73	35	21,2	300,5	118,90	157,42	-1,59	0,142	27,7	29,6	351,9	136,40	186,63	-1,20	0,191
Ssa2	10160,6	11184,7	6603,3	9316,20	2404,59	4961	4989,2	4675,5	4875,23	173,55	-3,19	0,037	3955,7	4005,4	3801,3	3920,80	106,43	-3,88	0,028
Ssa1	7383,5	7574,2	5699,3	6885,67	1031,84	13540,6	12365,7	11745,1	12550,47	911,90	+7,13	0,003	11366	8928	8105,6	9466,53	1695,60	+2,25	0,039
Ssa4	29,5	27,1	60,6	39,07	18,69	143,7	139,8	176,7	153,40	20,27	+7,18	0,000	175,1	166,5	321,4	221,00	87,06	+3,54	0,022
Ypk1	71,6	78,4	51,3	67,10	14,10	68,6	75,1	68,2	70,63	3,87	+0,42	0,325	57,7	60,6	63,4	60,57	2,85	-0,79	0,279
Sti1	956,7	942,9	556,3	818,63	227,29	696,2	678,3	483,6	619,37	117,92	-1,35	0,044	514,6	458,5	454,6	475,90	33,57	-2,58	0,053
Bat2	222,5	197,6	178,6	199,57	22,02	272	229	200,7	233,90	35,90	+1,41	0,025	248,8	203,1	156,2	202,70	46,30	+0,11	0,422
Tdh1	111,4	69,7	217,7	132,93	76,31	860,6	887,6	912,7	886,97	26,06	+16,20	0,001	1412,2	1200,5	1657,1	1423,27	228,50	+9,28	0,002
Hsp12	51,5	35,5	146,1	77,70	59,77	1737,7	1898,6	791,7	1476,00	598,06	+4,03	0,033	829,2	765,3	1271,7	955,40	275,78	+5,39	0,010
Hsp104	348,5	352,4	347,5	349,47	2,59	948,7	1017,2	567,3	844,40	242,41	+3,54	0,035	842,1	722	856,7	806,93	73,92	+10,71	0,005
Hsp78	59,4	57,9	58,2	58,50	0,79	163,4	163,9	69,4	132,23	54,42	+2,35	0,071	206,3	147,4	119,1	157,60	44,49	+3,86	0,030
Nth1	32,3	39,8	37,4	36,50	3,83	82,6	96	63,7	80,77	16,23	+4,60	0,020	71,1	69,8	80	73,63	5,55	+9,54	0,005
Sse1	152,2	153,6	95,7	133,83	33,03	203,3	205,9	134,1	181,10	40,72	+1,56	0,004	68,5	79,9	68	72,13	6,73	-3,17	0,035
Hsc82	4185,6	4285,6	2846,6	3772,60	803,50	2641,6	2764,2	1934,1	2446,63	448,08	-2,50	0,012	1828	1836,9	1631,5	1765,47	116,10	-4,28	0,018
Tps1	188	194,7	204,6	195,77	8,35	580,1	614,2	412,4	535,57	108,02	+5,43	0,018	615,5	638,3	680,6	644,80	33,03	+22,83	0,001
Nsr1	973,9	958,3	738,4	890,20	131,69	617	575,3	530,6	574,30	43,21	-3,95	0,014	184,8	192,6	162,5	179,97	15,62	-9,28	0,004
Pgk1	6317,3	6256,9	4465,4	5679,87	1052,19	8434,5	8747,1	6569,8	7917,13	1177,25	+2,45	0,002	5461,1	5124,2	4812,9	5132,73	324,18	-0,86	0,176
Hsp42	32,3	27	30,4	29,90	2,69	167,4	145,9	91,3	134,87	39,23	+4,62	0,022	171,3	171	168,6	170,30	1,48	+79,32	0,000
Aha1	197,4	151,5	147	165,30	27,89	208,6	222,7	173,5	201,60	25,34	+1,67	0,091	160,1	178,5	189,8	176,13	14,99	+0,59	0,351
Hsp26	8	3	22,6	11,20	10,18	32,7	32,7	49,8	38,40	9,87	+3,32	0,001	97	111,3	128,5	112,27	15,77	+9,32	0,002
Ydj1	795,9	837,3	578,2	737,13	139,19	559,4	578,7	451	529,70	68,84	-2,31	0,018	319,6	357,8	302,5	326,63	28,31	-5,01	0,013
Pre4	309,4	317,6	240,1	289,03	42,58	390,5	418	286,9	365,13	69,13	+1,62	0,020	237,1	242,8	265,9	248,60	15,25	-1,55	0,173
Htb2	1413,4	1333	1016	1254,13	210,11	1291,8	1254,3	938,6	1161,57	194,00	-0,56	0,012	909,7	784,7	528,1	740,83	194,55	-3,10	0,001
Bmh1	827,1	833,2	617,9	759,40	122,58	1109,1	1210,2	836,6	1051,97	193,24	+2,21	0,012	944,3	824,1	766	844,80	90,93	+0,97	0,109

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p < 0,05)

Таблица П 7 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние Флуконазола на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	Флуконазол (контроль)					Флуконазол (МИК/2)							Флуконазол (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	57,8	69,8	65,7	64,43	6,10	116,6	87,1	92,8	98,83	15,65	+3,55	0,055	79,7	100	87,9	89,20	10,21	+3,61	0,006
His7	115,6	111,5	77,2	101,43	21,09	147,7	135	98	126,90	25,82	+1,32	0,009	123,9	129,5	99,2	117,53	16,12	+1,05	0,029
Trp3	97,4	117,8	54,5	89,90	32,31	139,6	137,2	77,2	118,00	35,35	+1,02	0,029	137,6	140	83,7	120,43	31,83	+1,17	0,014
Aro2	102,8	150,4	85,1	112,77	33,77	129,9	176,1	99,9	135,30	38,39	+0,76	0,014	86,7	121,4	110,5	106,20	17,75	-0,30	0,364
Lys1	397,9	451,7	222,3	357,30	119,97	430,3	452,6	209,9	364,27	134,15	+0,07	0,326	282,7	362,4	213,8	286,30	74,37	-0,87	0,079
Hom2	127,8	188,9	61,7	126,13	63,62	189,5	180,1	105,3	158,30	46,14	+0,71	0,134	142,3	126,7	94,8	121,27	24,21	-0,12	0,441
Aro3	85,6	114,5	53,4	84,50	30,56	112,2	130,1	73,5	105,27	28,93	+0,85	0,011	92,3	99,3	75,9	89,17	12,01	+0,25	0,355
Car1	384,3	456,8	269,2	370,10	94,60	519,5	474,8	326,5	440,27	101,03	+0,88	0,089	374,6	558,6	386,1	439,77	103,07	+0,86	0,112
Sam4	164,3	189,9	98,9	151,03	46,93	164,9	172,1	120,8	152,60	27,77	+0,05	0,452	107	130	127,9	121,63	12,72	-1,05	0,210
Sui2	-16,2	-6,3	-5,4	-9,30	5,99	-18,7	-4,3	2	-7,00	10,61	+0,33	0,253	-14,2	-8,4	3,2	-6,47	8,86	+0,46	0,230
Gcv3	76	116,3	133,1	108,47	29,34	133,4	142,4	159,1	144,97	13,04	+1,97	0,037	123,8	160	155	146,27	19,62	+1,85	0,021
Rnr4	1160,8	1243,8	851,9	1085,50	206,52	1185,8	1211,4	874,5	1090,57	187,56	+0,03	0,406	1255,6	1324	887,6	1155,73	234,72	+0,39	0,029
Pdc1	9787,4	9954,5	5896,9	8546,27	2295,94	10452,1	9736	6727,3	8971,80	1976,50	+0,24	0,161	10062,2	10253,4	7289,3	9201,63	1658,89	+0,40	0,109
Pyc2	144,6	119,6	98,2	120,80	23,22	168,8	146,1	123,6	146,17	22,60	+1,36	0,000	143,8	147,5	124,6	138,63	12,29	+1,18	0,098
Tps3	75,2	74,9	47,4	65,83	15,96	99,1	90,2	79,7	89,67	9,71	+2,21	0,020	114	127,8	84,1	108,63	22,34	+2,70	0,007
Tsl1	38	63,5	93,4	64,97	27,73	64,4	78,5	97,9	80,27	16,82	+0,82	0,068	116,9	111,4	86,1	104,80	16,43	+2,14	0,127
Pgm2	54,1	101,3	196	117,13	72,26	95,9	108,3	175,7	126,63	42,94	+0,20	0,325	135,7	122,8	141,9	133,47	9,74	+0,39	0,359
Ald4	72,6	107,2	136,6	105,47	32,04	107,5	108,8	168,1	128,13	34,62	+0,83	0,083	97,5	105,2	159,6	120,77	33,85	+0,57	0,110
Hxk1	354,5	621,6	1203,2	726,43	433,95	550,3	532,9	1032,3	705,17	283,44	-0,07	0,433	562,9	478,1	851,5	630,83	195,75	-0,35	0,309
Pda1	80,2	124,3	136,6	113,70	29,66	114,4	104	156,2	124,87	27,63	+0,48	0,282	142,8	119,7	158,9	140,47	19,70	+1,30	0,152
Idp1	79,5	137	133	116,50	32,11	123,3	123,1	140,5	128,97	9,99	+0,64	0,268	112,9	112,1	146,2	123,73	19,46	+0,33	0,357
Tal1	334,2	418,8	281,9	344,97	69,08	398,9	413,8	309,4	374,03	56,47	+0,56	0,143	443,8	426,3	341,8	403,97	54,54	+1,16	0,092
Hxt3	699,2	952,3	511,9	721,13	221,02	1323,3	1378	1004,7	1235,33	201,60	+2,98	0,006	1011	1358,3	1059,1	1142,80	188,17	+2,52	0,013
Erg3	178,8	325	210,5	238,10	76,91	621,7	716,2	627,2	655,03	53,04	+7,73	0,001	392,1	655,4	672,2	573,23	157,09	+3,32	0,021
Pmi40	110,5	109,9	61,5	93,97	28,12	143,5	103,5	93	113,33	26,65	+0,87	0,136	148,6	147,9	106,5	134,33	24,11	+1,89	0,002
Hog1	79,4	73,7	45,9	66,33	17,92	89,4	71,3	64,1	74,93	13,04	+0,67	0,144	77,5	84,9	72,4	78,27	6,29	+1,09	0,142
Cwp1	105,1	108,8	60,1	91,33	27,11	78,9	76,3	75,9	77,03	1,63	-0,91	0,223	50	89	101,4	80,13	26,82	-0,51	0,365
Mdh2	126,6	188,4	114,2	143,07	39,75	186,4	130	186,7	167,70	32,65	+0,83	0,307	174,3	132	144,3	150,20	21,76	+0,27	0,423
Erg10	261,8	312,4	184,1	252,77	64,63	433,8	374,7	303	370,50	65,50	+2,22	0,033	511,2	399,7	346,1	419,00	84,23	+2,71	0,036
Lsc1	21,2	37,7	50,3	36,40	14,59	33,4	35,1	68,9	45,80	20,02	+0,66	0,137	47	26,4	56,8	43,40	15,52	+0,57	0,290
Pdr5	322	324,3	233,8	293,37	51,60	778	581,9	370,4	576,77	203,85	+2,33	0,047	949	879,9	383,9	737,60	308,26	+2,46	0,048
Dur1	52	45,3	11,7	36,33	21,59	60,6	68	35,5	54,70	17,03	+1,16	0,032	91,8	78	38,9	69,57	27,44	+1,65	0,006
Uga1	27,4	40,2	53,6	40,40	13,10	53,1	66,8	70,5	63,47	9,17	+2,50	0,009	112,5	88,9	65,7	89,03	23,40	+3,14	0,074
Gpd2	231,9	286,1	155,8	224,60	65,46	228,6	255,6	194	226,07	30,88	+0,04	0,474	227,2	227	176,5	210,23	29,21	-0,35	0,302

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 7

Белки	Флуконазол (контроль)					Флуконазол (МИК/2)							Флуконазол (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	463,9	340,5	328,3	377,57	75,02	627,6	564,6	422	538,07	105,34	+2,15	0,025	1100,7	787,7	500	796,13	300,44	+2,34	0,045
Ahp1	3739,4	3380,5	2191,3	3103,73	810,31	3282,9	3130	2249,7	2887,533	557,645	-0,381	0,143	2712,2	3819,3	3410,7	3314,07	559,84	+0,37	0,390
Grx1	11,5	70,4	14,5	32,13	33,17	14,9	44,3	22	27,067	15,341	-0,240	0,340	16,6	19,7	19,4	18,57	1,71	-0,71	0,270
Uth1	-5,6	-3,9	-6,9	-5,47	1,50	-16,3	-0,2	7	-3,167	11,930	+0,331	0,389	-7,7	0,7	7,4	0,13	7,57	+1,26	0,180
Yhb1	596,2	707,9	415,6	573,23	147,50	1159,7	1153,4	795,8	1036,300	208,303	+3,142	0,007	1031,6	1233,2	828	1030,93	202,60	+3,16	0,003
Tsa1	1467,8	1689,2	1319,8	1492,27	185,91	1676,4	1583,3	1562	1607,233	60,839	+1,018	0,204	1955,8	1637,7	1618,4	1737,30	189,47	+1,60	0,131
Sod1	939,4	1005,6	657,1	867,37	185,08	1007,6	911,8	824,2	914,533	91,731	+0,395	0,299	1048,3	944,5	862,8	951,87	92,97	+0,71	0,196
Trx2	100,3	99,1	338,5	179,30	137,87	66,4	98	380,9	181,767	173,177	+0,019	0,461	123,5	124,8	435,6	227,97	179,82	+0,37	0,091
Ssa2	8769,2	8825,6	5231,3	7608,70	2059,08	9187,2	8679,8	5851,8	7906,267	1797,217	+0,189	0,162	10786	9899,9	6407,5	9031,13	2314,93	+0,80	0,021
Ssa1	6838,5	7761,5	5798,7	6799,57	981,98	8321,3	8021,5	5819,9	7387,567	1365,889	+0,605	0,162	9857,8	9579,2	5933	8456,67	2189,99	+1,20	0,093
Ssa4	23,3	48,9	49,3	40,50	14,90	34,7	54,8	64,7	51,400	15,286	+0,885	0,029	44,8	44,8	48,2	45,93	1,96	+0,63	0,285
Ypk1	66,8	79,7	48,7	65,07	15,57	103,6	122,9	69,8	98,767	26,878	+1,879	0,018	186,1	160,6	72,4	139,70	59,66	+2,10	0,058
Sti1	885,3	951,7	615,8	817,60	177,89	922,6	861,6	628,6	804,267	155,159	-0,098	0,383	787,9	923,3	666,8	792,67	128,32	-0,20	0,310
Bat2	250,3	235,5	189,5	225,10	31,71	235,2	254,8	236,4	242,133	10,986	+0,879	0,221	184,2	309,2	255,6	249,67	62,71	+0,61	0,321
Tdh1	91,5	185,6	355,3	210,80	133,69	173	183,5	353,4	236,633	101,259	+0,267	0,226	551,9	204,6	309,8	355,43	178,09	+1,12	0,229
Hsp12	29,4	77,5	202,2	103,03	89,18	60,1	97,9	215,5	124,500	81,043	+0,309	0,026	54,5	74,8	191,1	106,80	73,71	+0,06	0,382
Hsp104	354,4	361,7	417	377,70	34,23	471	463,6	452,4	462,333	9,364	+4,131	0,039	826,5	638,1	559,4	674,67	137,25	+3,64	0,045
Hsp78	63,1	66,6	83,7	71,13	11,02	76,1	99,6	93,5	89,733	12,194	+1,960	0,062	107,8	87,8	94,1	96,57	10,23	+2,93	0,064
Nth1	29,3	34,9	36,2	33,47	3,67	37,8	64,7	54,9	52,467	13,614	+2,334	0,045	79,8	60,4	65,6	68,60	10,04	+5,69	0,023
Sse1	152,7	183,9	135,1	157,23	24,71	162,7	193,9	132,8	163,133	30,552	+0,260	0,143	157,3	134,9	119,4	137,20	19,05	-1,11	0,164
Hsc82	3976,7	3925,1	2678,9	3526,90	734,84	3975,1	3960,8	2974,4	3636,767	573,671	+0,204	0,180	4526	4341,9	3073,9	3980,60	790,60	+0,73	0,006
Tps1	180	190,5	247,9	206,13	36,55	271,9	312,5	281	288,467	21,305	+3,371	0,044	501,4	391,1	285,8	392,77	107,81	+2,84	0,076
Nsr1	913,9	1131,8	757,3	934,33	188,08	898,8	818,6	708,2	808,533	95,698	-1,033	0,157	592,4	618,1	618,8	609,77	15,04	-2,98	0,048
Pgk1	6321,9	6470,3	4613,7	5801,97	1031,74	6868,7	7114,5	5056,4	6346,533	1124,027	+0,618	0,006	8420,4	7904,7	5256,1	7193,73	1697,73	+1,21	0,040
Hsp42	20,8	30,5	45,2	32,17	12,29	30	39	53,4	40,800	11,803	+0,878	0,001	88,8	65,9	54,4	69,70	17,51	+3,04	0,079
Aha1	201,5	195,4	111,2	169,37	50,47	185,9	200,6	146,6	177,700	27,918	+0,250	0,315	188,6	222,1	151	187,23	35,57	+0,50	0,188
Hsp26	3	11,1	43,1	19,07	21,20	7,9	14,9	45,1	22,633	19,769	+0,213	0,026	9	9,2	33,9	17,37	14,32	-0,12	0,368
Ydj1	820,6	773,9	393	662,50	234,56	842,1	794,9	516,6	717,867	175,892	+0,327	0,123	842,6	782,1	575,3	733,33	140,16	+0,45	0,166
Pre4	335,2	321	252,4	302,87	44,28	360	343,1	269,1	324,067	48,347	+0,560	0,006	357,4	337,3	271,7	322,13	44,82	+0,53	0,004
Htb2	1326	1409,7	1057,1	1264,27	184,23	1358,5	1326,1	1132,5	1272,367	122,207	+0,063	0,440	1394,4	1319	1119,1	1277,50	142,26	+0,10	0,411
Bmh1	798,2	878	749,7	808,63	64,78	946	938,6	808	897,533	77,626	+1,523	0,047	1232,5	1081,1	829,7	1047,77	203,46	+1,94	0,074

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 8 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние Вориконазола на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	Вориконазол (контроль)					Вориконазол (МИК/2)							Вориконазол (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	59,1	58,7	46,1	54,63	7,39	96,5	106,1	50,2	84,27	29,89	+1,67	0,076	93,3	91,3	-5,2	59,80	56,30	+0,16	0,436
His7	127,6	116,9	74,6	106,37	28,03	142,9	122,5	92,5	119,30	25,35	+0,59	0,037	129,8	118,2	40	96,00	48,84	-0,32	0,241
Trp3	101,3	98,7	52,7	84,23	27,34	159,7	141	72,4	124,37	45,97	+1,30	0,035	166	136,1	27,9	110,00	72,66	+0,57	0,217
Aro2	122,1	113,6	86,8	107,50	18,42	117,5	119,7	95,3	110,83	13,50	+0,25	0,247	92,4	94	89,5	91,97	2,28	-1,45	0,123
Lys1	435,1	389,8	253,4	359,43	94,58	388	381,9	224,8	331,57	92,51	-0,36	0,066	383,9	362,8	132,5	293,07	139,45	-0,68	0,071
Hom2	155,9	133,4	100,5	129,93	27,86	134,1	129,3	79,3	114,23	30,35	-0,66	0,057	113,7	97	39,8	83,50	38,76	-1,68	0,012
Aro3	104,2	84,2	50,7	79,70	27,03	119	85	55	86,33	32,02	+0,27	0,128	119,1	96,3	29	81,47	46,85	+0,06	0,447
Car1	509	379,3	300,6	396,30	105,23	659,7	489,7	322,2	490,53	168,75	+0,82	0,066	675,1	437,7	325,5	479,43	178,50	+0,69	0,095
Sam4	188,8	156,1	124	156,30	32,40	109,4	115,6	95,7	106,90	10,18	-2,52	0,043	80,4	97,6	68,3	82,10	14,72	-3,61	0,025
Sui2	-9,8	-23,4	-12,7	-15,30	7,16	-5,7	-14,3	-16,8	-12,27	5,82	+0,57	0,257	-22,7	-17,7	-34,3	-24,90	8,52	-1,49	0,178
Gcv3	94,9	78,5	63,9	79,10	15,51	136,2	160,9	97,5	131,53	31,96	+2,56	0,037	144	134,6	93	123,87	27,14	+2,48	0,016
Rnr4	1144,5	1272,4	867,3	1094,73	207,08	1419,7	1363,3	1122,5	1301,83	157,85	+1,38	0,036	1517,4	1341,1	1005,8	1288,10	259,89	+1,01	0,085
Pdc1	10245,8	9711,3	7096,5	9017,87	1685,28	12108,3	10617,2	7161,4	9962,30	2537,64	+0,54	0,105	13252,4	10291,9	6710,1	10084,80	3276,06	+0,50	0,201
Pyc2	163,1	142,3	116	140,47	23,60	144,1	144,5	111,3	133,30	19,05	-0,41	0,185	126,1	128,6	74,4	109,70	30,60	-1,38	0,035
Tps3	86,3	67,2	70,4	74,63	10,23	152,8	119,5	94,4	122,23	29,30	+2,66	0,031	190,4	115,2	56,9	120,83	66,93	+1,18	0,153
Tsl1	56,6	48,3	82,1	62,33	17,61	142,4	111,3	119,2	124,30	16,17	+4,49	0,024	256,7	131,4	87,8	158,63	87,68	+1,87	0,115
Pgm2	76,1	92,3	153,4	107,27	40,77	158,4	143,1	184,1	161,87	20,72	+2,07	0,034	238,3	140,5	148,6	175,80	54,28	+1,75	0,149
Ald4	97,1	107,1	118,1	107,43	10,50	143,1	157,7	128	142,93	14,85	+3,38	0,055	137,3	133,9	95,8	122,33	23,04	+1,02	0,258
Hxk1	431,3	555,3	1010,7	665,77	305,09	614,4	589,7	796,3	666,80	112,83	+0,01	0,497	768,5	482,8	678,5	643,27	146,07	-0,12	0,459
Pda1	101,6	114,1	107,5	107,73	6,25	177,5	165,6	115,5	152,87	32,90	+2,33	0,075	202,6	157,9	108,6	156,37	47,02	+1,78	0,117
Idp1	116,1	111,9	144,5	124,17	17,73	148,5	141,3	113,2	134,33	18,65	+0,68	0,336	147,9	119	83,3	116,73	32,36	-0,35	0,407
Tal1	394,2	372,3	330,3	365,60	32,47	519,3	447,4	335,1	433,93	92,84	+1,20	0,095	541,1	416,1	349,3	435,50	97,36	+1,18	0,108
Hxt3	905,9	813,4	610,2	776,50	151,26	1695	1611,6	971	1425,87	396,13	+2,65	0,023	1659,8	1376,4	907,2	1314,47	380,10	+2,28	0,028
Erg3	227,8	239,4	222,1	229,77	8,82	814,9	757,6	615,2	729,23	102,83	+8,38	0,006	745,4	630,5	626,2	667,37	67,61	+11,12	0,004
Pmi40	130,3	114,1	98,7	114,37	15,80	169	144,7	124,8	146,17	22,14	+2,03	0,007	168	136,9	94,8	133,23	36,74	+0,82	0,131
Hog1	89,6	72,8	57,9	73,43	15,86	112,6	98	67,5	92,70	23,01	+1,19	0,029	106,8	85,5	41,3	77,87	33,41	+0,21	0,358
Cwp1	115,9	60,6	163,9	113,47	51,69	66,9	48,9	132,5	82,77	44,00	-0,78	0,052	25,1	19,3	92,1	45,50	40,46	-1,79	0,021
Mdh2	176,7	172,5	150,9	166,70	13,84	185,8	147,4	143,9	159,03	23,25	-0,49	0,259	184,2	145,7	90,5	140,13	47,10	-0,94	0,154
Erg10	289,4	260,1	226,3	258,60	31,58	539,8	442	373,6	451,80	83,53	+3,75	0,012	566,7	431,9	369,1	455,90	100,96	+3,23	0,020
Lsc1	30,4	25,6	29,4	28,47	2,53	47,8	53,3	39,5	46,87	6,95	+4,31	0,035	48,6	43,4	45,9	45,97	2,60	+8,35	0,000
Pdr5	329,1	338,9	225,5	297,83	62,83	1362,3	1421,9	475,5	1086,57	530,04	+2,56	0,050	1230,5	1433,5	536,5	1066,83	470,36	+2,81	0,041
Dur1	57,7	31,4	23,2	37,43	18,02	88	104,7	27,5	73,40	40,62	+1,40	0,108	75,8	100,5	-5,2	57,03	55,29	+0,58	0,279
Uga1	42,3	36,4	86,3	55,00	27,27	130,1	96,8	118,7	115,20	16,92	+3,25	0,032	181,7	115,4	100,5	132,53	43,23	+2,63	0,083
Gpd2	263,7	245,2	207,7	238,87	28,53	238,9	243	196,2	226,03	25,92	-0,58	0,095	219,1	243,9	160,9	207,97	42,61	-1,04	0,086

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,0)

Продолжение таблицы П. 8

Белки	Вориконазол (контроль)					Вориконазол (МИК/2)							Вориконазол (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	421,9	373,4	390,9	395,40	24,56	989,4	752,3	710,5	817,40	150,42	+4,80	0,015	1099,3	904,5	819,6	941,13	143,40	+6,50	0,009
Ahp1	3003,2	3084,6	3379,3	3155,70	197,87	4457,5	3437,7	2347,5	3414,23	1055,20	+0,42	0,377	4351,5	3304,9	3679	3778,47	530,34	+1,91	0,114
Grx1	14,4	7,5	11	10,97	3,45	15,8	13,5	11	13,43	2,40	+1,02	0,153	5,7	9,6	-21,5	-2,07	16,94	-1,31	0,165
Uth1	6,4	-7,7	-7	-2,77	7,95	4,2	-0,9	-8,3	-1,67	6,29	+0,19	0,369	-10	-4,9	-30,8	-15,23	13,72	-1,36	0,128
Yhb1	617,8	681,6	459,7	586,37	114,24	1274,6	1245,9	845,6	1122,03	239,83	+3,49	0,011	1204,3	1179,4	793,8	1059,17	230,15	+3,19	0,012
Tsa1	1552,7	1477,4	1215,7	1415,27	176,88	1955,4	1508,6	1506,5	1656,83	258,57	+1,34	0,080	2166,1	1534,1	1437	1712,40	395,90	+1,19	0,107
Sod1	969,2	846,5	720,5	845,40	124,35	1123,8	869	800,9	931,23	170,21	+0,71	0,077	1209,5	727	800,3	912,27	260,01	+0,40	0,293
Trx2	84,2	196,3	265,4	181,97	91,45	102	133,7	136,6	124,10	19,19	-1,07	0,153	40,5	102	170,9	104,47	65,23	-1,19	0,022
Ssa2	9220,8	8246,6	6037,9	7835,10	1630,86	10274,4	9026,9	6227,2	8509,50	2072,62	+0,44	0,059	10773,2	9654,3	6680,2	9035,90	2115,41	+0,78	0,026
Ssa1	6005	9381,9	5579,9	6988,93	2083,24	8758,1	11560,8	6086,5	8801,80	2737,41	+0,91	0,057	10777	12256,9	6286	9773,30	3109,42	+1,29	0,071
Ssa4	30,9	40,4	31,6	34,30	5,29	39,2	58,2	43,7	47,03	9,93	+1,96	0,022	31,1	46	35,7	37,60	7,63	+0,62	0,088
Ypk1	69,8	62,3	39,2	57,10	15,95	188,2	153,8	61,7	134,57	65,41	+1,99	0,057	204,8	179,7	55,5	146,67	79,94	+1,90	0,068
Sti1	841,4	918,3	643,4	801,03	141,83	985,7	916,4	695,8	865,97	151,39	+0,54	0,134	1021,9	864	718,1	868,00	151,94	+0,56	0,214
Bat2	228,9	158,9	171,3	186,37	37,35	238,6	227,2	201,6	222,47	18,95	+1,49	0,085	202,1	199,1	233,6	211,60	19,11	+1,04	0,223
Tdh1	114,4	201,2	233,6	183,07	61,63	316	338,6	257,5	304,03	41,85	+2,81	0,073	539,2	564,5	231,1	444,93	185,62	+2,32	0,094
Hsp12	60,7	39,8	102,4	67,63	31,87	160,3	87,1	151,1	132,83	39,87	+2,21	0,032	212	77,2	105,1	131,43	71,15	+1,42	0,146
Hsp104	384,7	374,8	393,3	384,27	9,26	948,6	698,9	553,5	733,67	199,83	+3,03	0,048	596,5	848,6	571,6	672,23	153,24	+3,25	0,046
Hsp78	60,6	63,1	82,4	68,70	11,93	121,9	104,1	102,8	109,60	10,67	+4,43	0,037	113,5	93,6	122,8	109,97	14,92	+3,74	0,012
Nth1	42,8	45,1	31,9	39,93	7,05	125,3	84,3	55,3	88,30	35,17	+2,34	0,056	136,5	100,2	73,2	103,30	31,76	+3,37	0,028
Sse1	180,9	175,3	120,5	158,90	33,37	184	163,2	103	150,07	42,07	-0,28	0,144	140,8	173,4	112,6	142,27	30,43	-0,64	0,148
Hsc82	3907	3899,8	2895,2	3567,33	582,10	4525,9	4270	3111,2	3969,03	753,84	+0,73	0,038	4714,2	4461	3236	4137,07	790,55	+1,01	0,026
Tps1	196,9	180,3	207,4	194,87	13,66	657,8	438,2	269,8	455,27	194,56	+2,31	0,076	966,3	578,8	367,3	637,47	303,78	+2,52	0,065
Nsr1	931,7	1019,3	701,1	884,03	164,37	543,4	604,3	533	560,23	38,52	-3,32	0,027	409,2	531,2	495	478,47	62,66	-3,99	0,028
Pgk1	6656,6	6383,3	4960,5	6000,13	910,66	9118,6	8075,4	5279,7	7491,23	1985,00	+1,18	0,070	10768,3	9593,9	5390,3	8584,17	2827,61	+1,51	0,072
Hsp42	26,3	24,2	29,3	26,60	2,56	111,4	77,6	49	79,33	31,24	+2,91	0,054	162,7	104	44	103,57	59,35	+2,24	0,080
Aha1	189,8	177,1	131	165,97	30,94	215,7	196,2	160,6	190,83	27,94	+1,03	0,007	236,2	203,2	102,8	180,73	69,48	+0,34	0,288
Hsp26	16,2	5,4	34,9	18,83	14,93	20,8	11,1	26,9	19,60	7,97	+0,08	0,439	7,8	13,4	-15,6	1,87	15,38	-1,37	0,216
Ydj1	806,1	768,9	591,8	722,27	114,51	825,3	763,6	546,5	711,80	146,44	-0,10	0,317	818,6	752,1	480,3	683,67	179,23	-0,31	0,205
Pre4	361,5	325,3	250,1	312,30	56,83	406,3	347	265,1	339,47	70,90	+0,52	0,047	419,8	354	208,6	327,47	108,07	+0,22	0,330
Htb2	1401,4	1390,8	1047	1279,73	201,62	1420,1	1397,1	1080,1	1299,10	190,01	+0,12	0,065	1427,5	1274,8	1077,1	1259,80	175,68	-0,13	0,359
Bmh1	856,7	819,6	726,2	800,83	67,24	1459,6	1199,1	900	1186,23	280,02	+2,32	0,045	1655,3	1310,3	986,8	1317,47	334,31	+2,62	0,040

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 9 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние 5FC на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	5FC (контроль)					5FC (МИК/2)							5FC (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	69,9	73,9	49,6	64,47	13,03	50,9	133,2	64,3	82,80	44,16	+0,69	0,252	47,6	159,6	66	91,07	60,06	+0,75	0,244
His7	127,6	89,9	100,5	106,00	19,44	58,5	22,1	63,3	47,97	22,53	-3,38	0,015	68,8	47,9	65,1	60,60	11,15	-3,51	0,011
Trp3	120,1	84,3	70,7	91,70	25,52	49,5	39	67,5	52,00	14,41	-2,35	0,090	65,7	60,7	70,3	65,57	4,80	-1,74	0,118
Aro2	133,3	128,7	98,6	120,20	18,85	22,7	17,8	69,4	36,63	28,48	-4,24	0,046	44,5	40	72,8	52,43	17,78	-4,53	0,042
Lys1	305,6	199,8	276	260,47	54,58	261,7	282	161	234,90	64,80	-0,52	0,350	237,4	235,1	146	206,17	52,12	-1,25	0,189
Hom2	134,3	63,6	111,5	103,13	36,08	72	21	95	62,67	37,87	-1,34	0,046	84,5	48,1	79,1	70,57	19,64	-1,37	0,041
Aro3	88,9	57,5	62,1	69,50	16,96	103	39,8	90	77,60	33,37	+0,37	0,305	117	62,3	85,8	88,37	27,44	+1,01	0,059
Car1	455,8	208	289,4	317,73	126,31	265,7	187,7	157,6	203,67	55,79	-1,43	0,075	252,8	194,7	163	203,50	45,54	-1,47	0,087
Sam4	197,8	178,4	139,2	171,80	29,85	83,6	68,6	86,7	79,63	9,68	-5,09	0,022	78,5	77,6	82,6	79,57	2,67	-5,33	0,019
Sui2	-18,5	-16,9	-11,8	-15,73	3,50	-62,2	-91,7	-14	-55,97	39,22	-1,77	0,098	-41,1	-64,4	-9,6	-38,37	27,50	-1,41	0,128
Gcv3	106,8	112,3	83,2	100,77	15,46	139,6	142,3	136,7	139,53	2,80	+4,27	0,017	157,2	160,8	135,9	151,30	13,46	+4,27	0,000
Rnr4	1080,6	1152,8	717,6	983,67	233,23	974,1	1022,5	681,7	892,77	184,38	-0,53	0,043	1054,6	1029	779,6	954,40	151,92	-0,18	0,320
Pdc1	10416,1	10249,1	7381,6	9348,93	1705,81	13620,2	11961,3	8419,8	11333,77	2656,39	+1,09	0,045	13664	11430,2	8641,6	11245,27	2516,30	+1,08	0,054
Pyc2	270,3	137,2	129,6	179,03	79,13	152,8	111,3	129,8	131,30	20,79	-1,01	0,156	145,4	116,9	127,2	129,83	14,43	-1,06	0,163
Tps3	167,3	96,4	69,4	111,03	50,56	117,1	78,1	87,7	94,30	20,32	-0,53	0,243	120,4	73,3	90,1	94,60	23,87	-0,51	0,247
Tsl1	212	112,3	110,8	145,03	58,00	735,1	524,9	511,8	590,60	125,31	+5,59	0,004	728,2	618,2	550,8	632,40	89,55	+7,91	0,001
Pgm2	201,6	146,9	147,2	165,23	31,49	716,8	330,9	534,3	527,33	193,04	+3,21	0,032	709,2	586,4	528,8	608,13	92,14	+7,88	0,003
Ald4	132,4	94,1	130,1	118,87	21,48	371,3	112	272	251,77	130,83	+1,74	0,087	301,7	249,3	272,4	274,47	26,26	+7,94	0,001
Hxk1	647,6	736,8	968	784,13	165,36	3432,7	3055,7	2547,9	3012,10	444,01	+8,14	0,012	2841,2	3100,1	2499,5	2813,60	301,25	+10,23	0,008
Pda1	144,3	112,4	158	138,23	23,40	311,8	265,1	308,4	295,10	26,04	+7,76	0,001	293,9	292,5	318,8	301,73	14,80	+10,23	0,001
Idp1	141	86,3	160,8	129,37	38,59	166,2	128,9	224	173,03	47,92	+1,23	0,029	214,6	145,2	221,3	193,70	42,14	+1,95	0,003
Tal1	463,7	421,1	393,6	426,13	35,32	425,3	346,2	390,8	387,43	39,66	-1,26	0,102	409,9	383,7	392,1	395,23	13,38	-1,42	0,092
Hxt3	902,2	1048,6	741,7	897,50	153,50	602,7	620,8	447,7	557,07	95,15	-3,26	0,008	558,4	531,6	406,5	498,83	81,08	-3,98	0,011
Erg3	278,4	469,2	240,8	329,47	122,46	42,8	124,1	97,8	88,23	41,49	3,23	0,027	62,2	58,6	88,9	69,90	16,55	-3,64	0,040
Pmi40	153,3	122,5	99,5	125,10	26,99	84	-15,4	81,5	50,03	56,68	2,07	0,082	103,1	39,8	80,7	74,53	32,10	-2,09	0,056
Hog1	93,1	70,1	65,6	76,27	14,75	105,1	115,8	78,9	99,93	18,98	+1,71	0,082	109,8	70,3	86,3	88,80	19,87	+0,88	0,092
Cwp1	256,8	331,1	218,6	268,83	57,21	471,7	115,5	356,3	314,50	181,74	+0,42	0,382	442,2	359	303,1	368,10	70,00	+1,90	0,082
Mdh2	172	87,3	179,5	146,27	51,20	89,7	118,8	120,7	109,73	17,38	-1,17	0,201	468,1	140,5	115	241,20	196,91	+0,81	0,233
Erg10	287,5	270,7	246,4	268,20	20,66	150,4	161,8	176,4	162,87	13,03	-7,47	0,016	279,5	162,7	166,6	202,93	66,34	-1,63	0,080
Lsc1	41,8	31	55,6	42,80	12,33	76,8	63	94,1	77,97	15,58	+3,07	0,001	308,7	69,2	100,4	159,43	130,21	+1,54	0,130
Pdr5	340,8	549,5	312,8	401,03	129,34	412,6	111,4	219,4	247,80	152,60	-1,33	0,207	280,2	277,8	210,2	256,07	39,74	-1,86	0,077
Dur1	-2,7	-5,4	-4,6	-4,23	1,39	-35	7,6	-1,5	-9,63	22,43	-0,42	0,366	222,5	-15	2,7	70,07	132,31	+0,97	0,215
Uga1	36,9	57	69,2	54,37	16,31	149,5	105,6	212,7	155,93	53,84	+3,13	0,034	216,9	128,7	228,3	191,30	54,51	+4,17	0,027
Gpd2	182,3	136,5	158,4	159,07	22,91	165,6	149,6	173,4	162,87	12,13	+0,25	0,373	170,4	165,6	171,7	169,23	3,21	+0,76	0,242

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 9

Белки	5FC (контроль)					5FC (МИК/2)							5FC (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	548,4	875,7	421,1	615,07	234,52	933,7	1109	747,2	929,97	180,93	+1,84	0,010	1041,6	1050,9	740,3	944,27	176,70	+1,94	0,035
Ahp1	6289,6	6061	4762,6	5704,40	823,59	9277,9	7814,9	6599,3	7897,37	1341,20	+2,41	0,016	9481,9	9042,5	6784,4	8436,27	1447,33	+2,84	0,008
Grx1	31,4	7,4	13,1	17,30	12,54	-1,5	16,3	22,3	12,37	12,38	-0,48	0,379	4,5	-21,5	28,3	3,77	24,91	-0,84	0,223
Uth1	10,7	-14,7	-10,5	-4,83	13,62	-41,9	-35,4	-6,8	-28,03	18,67	-1,74	0,145	-33,9	-24,8	10	-16,23	23,17	-0,73	0,303
Yhb1	363,8	469,5	266,5	366,60	101,53	102,8	155,9	171	143,23	35,82	-3,59	0,038	134	172,7	159,3	155,33	19,65	-3,54	0,031
Tsa1	1834,9	2243,8	1737,6	1938,77	268,61	2176,1	2280,6	1996,3	2151,00	143,80	+1,21	0,072	489,3	2357	1985,7	1610,67	988,72	-0,55	0,293
Sod1	1078,3	1288	1032,5	1132,93	136,23	1681,5	1769,9	1436,7	1629,37	172,61	+3,91	0,007	372,2	1682,4	1391,6	1148,73	688,04	+0,04	0,485
Trx2	367,2	653,1	114,7	378,33	269,37	104,2	64,5	-6,5	54,07	56,08	-2,04	0,072	358,6	-0,1	-15,1	114,47	211,56	-1,33	0,157
Ssa2	8801,5	8588,4	6594,2	7994,70	1217,54	4249,5	48,8	3115,1	2471,13	2173,13	-3,84	0,035	4472,4	4401	3163,7	4012,37	735,83	-4,85	0,002
Ssa1	7954,4	8840,5	7104,7	7966,53	867,96	13025	634,9	12228,4	8629,43	6934,92	+0,16	0,447	329,5	10908,4	11907,5	7715,13	6415,62	-0,07	0,476
Ssa4	31,3	30,5	46,7	36,17	9,13	97,2	15,6	141	84,60	63,64	+1,30	0,138	317,8	95,1	144,5	185,80	116,95	+2,21	0,081
Ypk1	51,4	53,3	43,1	49,27	5,42	19,1	19,4	57,5	32,00	22,08	-1,32	0,195	26	29,7	57,1	37,60	16,99	-1,13	0,230
Sti1	909,4	763	654,9	775,77	127,73	679,4	673,6	519,6	624,20	90,63	-1,68	0,034	717,9	678,7	525,4	640,67	101,73	-1,43	0,025
Bat2	219,4	202,6	196,8	206,27	11,74	179,5	197,7	200,7	192,63	11,47	-1,44	0,208	183,7	217,8	198,2	199,90	17,11	-0,53	0,358
Tdh1	215,3	306,8	210,4	244,17	54,30	1011,9	115,7	742	623,20	459,76	+1,42	0,164	1000,8	834,3	700,4	845,17	150,49	+6,51	0,012
Hsp12	134,4	263,7	321,1	239,73	95,63	7312,1	302,9	3599,2	3738,07	3506,66	+1,73	0,116	804,1	5851,1	3577,9	3411,03	2527,63	+2,17	0,078
Hsp104	436,1	569,6	381,2	462,30	96,89	1141,1	1007,4	831	993,17	155,54	+5,02	0,013	1093,3	1021,6	839	984,63	131,12	+5,55	0,008
Hsp78	63,9	75,7	85,2	74,93	10,67	154,4	127,3	166,3	149,33	19,99	+5,69	0,012	182,7	172,8	166,3	173,93	8,26	+12,71	0,006
Nth1	39,5	64,1	34,5	46,03	15,84	102,9	68,1	114,7	95,23	24,23	+2,94	0,084	100,9	130,7	121,3	117,63	15,23	+5,64	0,006
Sse1	152,5	129,5	138,6	140,20	11,58	101,4	115,3	101,5	106,07	8,00	-4,20	0,043	101,5	141,2	95,9	112,87	24,70	-1,74	0,150
Hsc82	4090,5	3922,2	3056,6	3689,77	554,76	2100,5	642,3	1621,3	1454,70	743,24	-4,17	0,027	292,3	2025,4	1684,4	1334,03	918,14	-3,80	0,043
Tps1	228,5	355,6	248,2	277,43	68,41	916,2	666,5	697,1	759,93	136,19	+5,48	0,024	337,8	776,1	697,1	603,67	233,61	+2,32	0,048
Nsr1	984,5	623,1	759,3	788,97	182,52	415	4491,4	506,8	1804,40	2327,46	+0,75	0,276	430	456,7	443	443,23	13,35	-3,27	0,046
Pgk1	6318,2	6698,9	4505,5	5840,87	1172,02	6941,1	6416	4928	6095,03	1044,23	+0,28	0,226	6956	6328,8	4784,4	6023,07	1117,62	+0,19	0,300
Hsp42	38,1	38,3	33,7	36,70	2,60	202	149,4	182,4	177,93	26,58	+9,16	0,006	245,2	200,6	197,4	214,40	26,72	+11,46	0,003
Aha1	175,6	134,4	135,6	148,53	23,45	180,4	149	125,7	151,70	27,45	+0,15	0,350	209,2	187,7	148,6	181,83	30,72	+1,49	0,052
Hsp26	19,8	-9,3	16,4	8,97	15,91	99,2	5,2	101,2	68,53	54,86	+1,81	0,059	336,5	43,3	102	160,60	155,14	+1,68	0,105
Ydj1	772,7	681,2	613,6	689,17	79,85	766,8	380,7	609,3	585,60	194,14	-0,85	0,202	659,8	832,6	631,5	707,97	108,86	+0,24	0,414
Pre4	316,8	329,7	251,4	299,30	41,98	369,2	365,1	300,3	344,87	38,65	+1,38	0,006	761,1	411,8	304,1	492,33	238,91	+1,38	0,132
Htb2	1514,6	1598,8	1089,5	1400,97	273,00	810	831,5	790,7	810,73	20,41	-3,73	0,028	742,1	823,4	710,3	758,60	58,33	-3,99	0,020
Bmh1	931,1	1086,8	801	939,63	143,09	1361,6	1244,7	1081,5	1229,27	140,69	+2,50	0,033	1353,9	1247,5	1017	1206,13	172,22	+2,06	0,040

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 10 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние SOV4 на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	SOV4 (контроль)					SOV4 (МИК/2)							SOV4 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	77,3	88,2	114,4	93,30	19,07	94,7	120,9	182,5	132,70	45,07	+1,39	0,060	248,5	164,2	181,9	198,20	44,45	+3,76	0,04
His7	126	158,7	173,6	152,77	24,35	121,5	169	175,3	155,27	29,41	+0,11	0,310	198,6	177	210,6	195,40	17,03	+2,49	0,06
Trp3	102,2	130,1	144,5	125,60	21,51	125,4	181,2	187,2	164,60	34,08	+1,68	0,021	222,9	245	205,2	224,37	19,94	+5,83	0,02
Aro2	105,8	146,2	165,9	139,30	30,64	102,4	122,6	167,6	130,87	33,38	-0,32	0,194	131,6	220,1	168,5	173,40	44,45	+1,09	0,12
Lys1	369,7	402,7	441,7	404,70	36,04	291	384,5	499,1	391,53	104,23	-0,21	0,385	411,6	316,3	457,7	395,20	72,11	-0,20	0,42
Hom2	128,8	197,1	224	183,30	49,08	199	215	301,9	238,63	55,37	+1,30	0,050	328,5	368,4	327,3	341,40	23,39	+5,04	0,02
Aro3	92,1	108,5	111,4	104,00	10,41	185,9	158,3	255,1	199,77	49,87	+3,26	0,036	351,9	561,4	408,4	440,57	108,39	+5,35	0,01
Car1	555,5	578,5	488,3	540,77	46,87	612,8	647,4	454,4	571,53	102,91	+0,47	0,222	393	316,7	330,6	346,77	40,64	-5,42	0,01
Sam4	176,8	197,3	189,6	187,90	10,36	149,9	153,4	187	163,43	20,48	-1,85	0,089	201,2	251	133,2	195,13	59,13	+0,21	0,42
Sui2	-5	0,9	12,8	2,90	9,07	-18,4	-7,2	23,8	-0,60	21,86	-0,26	0,342	-6,1	69,8	31,7	31,80	37,95	+1,28	0,15
Gcv3	98	114,5	184,2	132,23	45,75	224,7	246,3	383,8	284,93	86,30	+2,71	0,011	263,6	372,6	423,1	353,10	81,52	+4,09	0,01
Rnr4	1004,9	1223,4	343,2	857,17	458,32	251,1	1241,1	147,5	546,57	603,71	-0,71	0,155	701,1	342,2	87	376,77	308,51	-1,51	0,07
Pdc1	9515,9	9711,8	9904,7	9710,80	194,40	160,6	8377,2	8120,1	5552,63	4671,41	-1,54	0,126	365,4	620,8	5099,1	2028,43	2662,34	-4,98	0,02
Pyс2	147,9	180,6	214,9	181,13	33,50	131,7	280,9	263,6	225,40	81,61	+0,87	0,160	247,1	233,6	241,2	240,63	6,77	+3,02	0,05
Tps3	82,5	86,2	111,9	93,53	16,01	124,5	159	163,6	149,03	21,37	+3,60	0,013	231,9	248,1	160,9	213,63	46,38	+4,24	0,04
Tsl1	57,6	69,7	162,4	96,57	57,33	307,6	342,8	350,2	333,53	22,76	+6,65	0,006	493	470,9	439,2	467,70	27,04	+10,14	0,01
Pgm2	61,9	73,5	231,3	122,23	94,63	245,1	300,4	437,1	327,53	98,83	+2,60	0,002	561,6	463,5	535,5	520,20	50,81	+6,42	0,01
Ald4	84,8	136,3	179	133,37	47,17	247,3	355,4	409,5	337,40	82,58	+3,72	0,005	354,8	396,9	400,3	384,00	25,35	+8,11	0,00
Hxk1	442,7	504,7	1472,9	806,77	577,72	1425,3	1500,4	2005,4	1643,70	315,48	+2,20	0,016	3227,3	662,4	1943,9	1944,53	1282,45	+1,40	0,15
Pda1	117	160,3	263,3	180,20	75,15	324,8	442,3	453,1	406,73	71,16	+3,79	0,008	474,1	433,7	409,7	439,17	32,55	+5,48	0,03
Idp1	118,4	164	232,5	171,63	57,43	245,9	322,1	350,4	306,13	54,05	+2,95	0,004	261,3	342,9	335,2	313,13	45,05	+3,36	0,01
Tal1	414	467,8	476	452,60	33,68	529,4	576,1	511,3	538,93	33,44	+3,15	0,039	406,8	470,1	443,3	440,07	31,77	-0,47	0,18
Hxt3	718,5	910,7	933,5	854,23	118,10	545	928,9	416,6	630,17	266,56	-1,33	0,144	268,2	276,6	259,1	267,97	8,75	-8,57	0,01
Erg3	232,1	310,2	357,2	299,83	63,19	554,5	232,2	113,3	300,00	228,28	-0,00	0,500	102,1	36,5	92,4	77,00	35,41	-5,33	0,02
Pmi40	113,9	141,9	146,6	134,13	17,68	87,6	150,5	144,7	127,60	34,76	-0,29	0,296	52,5	337,6	100,6	163,57	152,62	+0,33	0,38
Hog1	85,8	99,8	105,8	97,13	10,26	126,3	115,4	102,3	114,67	12,02	+1,92	0,151	86,2	90,3	104,1	93,53	9,38	-0,45	0,18
Cwp1	98,2	89,7	136,6	108,17	24,99	260,1	159,7	297,6	239,13	71,30	+3,00	0,025	28,1	97,3	114,4	79,93	45,70	-0,94	0,17
Mdh2	111,3	189,5	200,3	167,03	48,57	142,1	220,1	147,3	169,83	43,61	+0,07	0,465	295,8	309,7	139,5	248,33	94,51	+1,33	0,19
Erg10	266,2	304,9	305,3	292,13	22,46	263,7	288,5	279,9	277,37	12,59	-0,99	0,078	276,8	291,2	198,7	255,57	49,77	-1,16	0,21
Lsc1	31,8	47,8	67,5	49,03	17,88	100,4	122,8	139,6	120,93	19,67	+4,69	0,000	184,1	202,1	171,5	185,90	15,38	+10,05	0,01
Pdr5	364,5	419,5	552,1	445,37	96,44	779,2	869,4	508,9	719,17	187,60	+2,25	0,113	352,8	349	319,9	340,57	18,00	-1,85	0,13
Dur1	8,8	16,8	48,3	24,63	20,88	13,3	27,6	48,4	29,77	17,65	+0,33	0,120	31,3	93,6	66,1	63,67	31,22	+1,80	0,09
Uga1	27,4	41,8	141,8	70,33	62,31	138,9	171	318,9	209,60	96,01	+2,11	0,010	334,3	355,5	377,8	355,87	21,75	+7,49	0,00
Gpd2	198,8	241,9	206,1	215,60	23,07	212,9	197,6	216,7	209,07	10,11	-0,45	0,381	253,8	243,4	187,8	228,33	35,49	+0,52	0,31

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 10

Белки	SOV4 (контроль)					SOV4 (МИК/2)							SOV4 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	430,6	399	415,1	414,90	15,80	595,7	646,3	761,9	667,97	85,19	+5,06	0,020	689	521,9	553,2	588,03	88,83	+3,32	0,03
Ahp1	6232,7	6254,6	4512,9	5666,73	999,31	554,5	8463,3	3644,1	4220,63	3985,80	-0,61	0,297	6968,4	5471,9	2103,4	4847,90	2491,80	-0,53	0,231
Grx1	13,6	25,4	38,6	25,87	12,51	66,7	48,2	37,7	50,87	14,68	+2,25	0,125	44,9	335,8	61,7	147,47	163,32	+1,29	0,163
Uth1	-1,8	1,6	11,2	3,67	6,74	-17	-9,5	15,7	-3,60	17,13	-0,68	0,175	6,4	67,4	20,7	31,50	31,90	+1,48	0,140
Yhb1	377,4	461,4	630,2	489,67	128,75	143,9	202,7	354	233,53	108,39	-2,64	0,001	232,9	222	220,4	225,10	6,80	-3,55	0,038
Tsa1	1651,9	1860,9	1699,7	1737,50	109,51	2381,5	2492,8	1838,1	2237,47	350,31	+2,36	0,056	1724,8	2252,2	1620,6	1865,87	338,61	+0,62	0,226
Sod1	934,5	945,8	928,7	936,33	8,70	1281,6	1186,3	1136,3	1201,40	73,82	+6,18	0,012	1250,2	1219,7	1057,3	1175,73	103,69	+3,98	0,026
Trx2	422,8	309,5	513,6	415,30	102,26	817,1	799,7	711,2	776,00	56,79	+5,34	0,026	1011,3	944,2	717,6	891,03	153,90	+4,46	0,037
Ssa2	9473,9	9541,6	8468,1	9161,20	601,20	7896,1	8078,8	4866,5	6947,13	1804,20	-2,02	0,043	3900,1	4162	4267,5	4109,87	189,17	-13,88	0,004
Ssa1	6900,1	7931,7	9484,8	8105,53	1301,09	8809,6	11307	11267,5	10461,37	1430,61	+2,11	0,022	11864,5	11982,2	11818,6	11888,43	84,39	+5,03	0,020
Ssa4	31,1	35,2	72,8	46,37	22,98	57,6	80,8	98,6	79,00	20,56	+1,83	0,019	292,5	243,9	176,6	237,67	58,20	+5,30	0,027
Ypk1	67	73,6	66,8	69,13	3,87	76,9	98,2	73,9	83,00	13,25	+1,74	0,063	112,2	131	85,1	109,43	23,07	+2,98	0,037
Sti1	896,4	997,6	836,2	910,07	81,56	770,9	953,4	638,1	787,47	158,30	-1,19	0,055	960	634,9	572,8	722,57	207,95	-1,45	0,141
Bat2	233,3	229,3	193	218,53	22,20	543,6	291,4	273,8	369,60	150,95	+1,71	0,099	252,5	300,2	236,2	262,97	33,26	+1,92	0,048
Tdh1	84,2	136	1793,9	671,37	972,49	266,7	623,6	1157,5	682,60	448,32	+0,02	0,488	1401,9	585,8	1915,8	1301,17	670,70	+0,92	0,110
Hsp12	52,4	66,9	183,2	100,83	71,70	2452,5	2266,9	1313,9	2011,10	610,88	+5,38	0,020	3111,4	3650,4	3027,2	3263,00	338,13	+15,85	0,002
Hsp104	327,3	374,8	566,7	422,93	126,75	665,8	919,2	1301,2	962,07	319,86	+2,71	0,021	747,6	1315,6	1103,9	1055,70	287,05	+3,49	0,028
Hsp78	62,8	63,3	103,3	76,47	23,24	142,2	113,1	256,9	170,73	76,03	+2,05	0,046	352,5	325,3	280,7	319,50	36,25	+9,78	0,009
Nth1	35,5	36,2	56,1	42,60	11,70	100,1	111,6	91,6	101,10	10,04	+6,57	0,020	215,8	228,7	107,7	184,07	66,45	+3,63	0,044
Sse1	135	154,8	149,5	146,43	10,25	212,7	235,2	119,9	189,27	61,12	+1,20	0,179	665,4	215,3	140,7	340,47	283,86	+1,18	0,185
Hsc82	4234,2	4199,6	3168,8	3867,53	605,37	3846,1	3818,7	2262,3	3309,03	906,60	-0,89	0,042	578,7	2115,1	1519,8	1404,53	774,66	4,34	0,028
Tps1	186,9	186,1	369,4	247,47	105,60	592	609,2	656	619,07	33,12	+5,82	0,007	691,3	847,8	737,7	758,93	80,38	+6,68	0,013
Nsr1	871,7	1108,3	888,6	956,20	131,99	408,1	484,6	359,4	417,37	63,11	-6,38	0,004	232,6	197,9	151,4	193,97	40,74	-9,56	0,005
Pgk1	6087,3	6092,1	6341,2	6173,53	145,22	5617,6	5372	6146,3	5711,97	395,68	-1,90	0,047	5740,3	2928	4926,9	4531,73	1447,20	-1,96	0,092
Hsp42	23,8	38,8	103,7	55,43	42,47	90,2	131,2	169,9	130,43	39,86	+2,23	0,007	340,7	341	286,4	322,70	31,44	+8,76	0,012
Aha1	192,8	192	196	193,60	2,12	174,3	220	187,3	193,87	23,55	+0,02	0,493	286	281,6	202,6	256,73	46,93	+2,33	0,078
Hsp26	-0,4	13,1	68,8	27,17	36,68	-14,4	69,2	80,4	45,07	51,80	+0,49	0,237	354,2	278,8	92,3	241,77	134,82	+2,66	0,081
Ydj1	841	751,1	820,6	804,23	47,13	634,3	622,8	712,7	656,60	48,92	-3,76	0,020	380	473,6	632,6	495,40	127,70	-3,93	0,031
Pre4	300,1	320,6	343,8	321,50	21,86	407,8	366,2	352,3	375,43	28,88	+2,58	0,102	383,4	364,8	336,4	361,53	23,67	+2,15	0,133
Htb2	1330,9	1385,3	1422,4	1379,53	46,02	409,5	1658,9	1481	1183,13	675,87	-0,50	0,323	356,3	518,3	1474	782,87	604,00	-1,71	0,104
Bmh1	774	890,9	1004,7	889,87	115,35	1171,3	1276,5	1083,6	1177,13	96,58	+3,31	0,055	821,6	1099,8	1141	1020,80	173,74	+1,09	0,053

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 11 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние SOV8 на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	SOV8 (контроль)					SOV8 (МИК/2)							SOV8 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	84,5	273,7	81,8	146,67	110,02	126,6	137,1	144,9	136,20	9,18	-0,16	0,442	183	-167,3	176,3	64,00	200,34	-0,63	0,345
His7	112,8	118,7	133,6	121,70	10,72	196,1	220,3	216,1	210,83	12,93	+9,19	0,002	164,2	-141,8	192,9	71,77	185,51	-0,47	0,341
Trp3	102,2	104,5	109,4	105,37	3,68	187,1	229,1	220	212,07	22,10	+8,25	0,006	189,4	148,9	248,3	195,53	49,98	+3,12	0,040
Aro2	115,7	130,6	118,5	121,60	7,92	117,3	126,3	129,4	124,33	6,29	+0,47	0,300	214,7	-211,5	134,2	45,80	226,43	-0,58	0,316
Lys1	253,3	295,5	379	309,27	63,97	381,1	517,9	433,3	444,10	69,04	+2,48	0,055	313,6	31,6	396,6	247,27	191,33	-0,53	0,302
Hom2	96,1	108	161,6	121,90	34,89	233,5	356,5	372	320,67	75,89	+4,12	0,013	236,6	250	332,4	273,00	51,88	+4,19	0,002
Aro3	74	111,9	101,1	95,67	19,53	197,2	293,3	250,1	246,87	48,13	+5,04	0,006	297,5	192,2	217,8	235,83	54,92	+4,17	0,041
Car1	517,3	510,4	558,8	528,83	26,18	496,6	435,1	490,1	473,93	33,79	-2,22	0,043	391,5	-63,4	307	211,70	241,96	-2,26	0,070
Sam4	176,5	182,2	196,2	184,97	10,14	194,3	40,1	143,2	125,87	78,55	-1,29	0,165	89,3	-218,5	92,2	-12,33	178,55	-1,91	0,096
Sui2	-8,6	-8,1	-13	-9,90	2,70	-8,7	39,4	-5,7	8,33	26,95	+1,17	0,171	0,9	-336,8	2,9	-111,00	195,55	-0,90	0,234
Gcv3	121,1	138,1	99,2	119,47	19,50	431,3	264,4	313,4	336,37	85,79	+4,27	0,028	315,1	-13,6	363,9	221,80	205,32	+0,86	0,255
Rnr4	1088,8	1111,9	1267,6	1156,10	97,25	1327,7	1204,6	972,4	1168,23	180,42	+0,10	0,473	287,4	621,3	784	564,23	253,17	-3,78	0,015
Pdc1	9066,1	9618,1	10459,1	9714,43	701,48	8597,2	7983,1	8249,1	8276,47	307,96	-3,25	0,053	3536,7	-139,1	6682,1	3359,90	3414,04	-3,16	0,035
Pyc2	164,4	165,2	176,1	168,57	6,54	274,1	198,9	219,9	230,97	38,80	+2,75	0,060	208,8	-116,5	271,4	121,23	208,25	-0,39	0,364
Tps3	105	161,3	88,8	118,37	38,05	133,5	194,1	181,2	169,60	31,92	+1,79	0,065	204,9	-165,5	214	84,47	216,53	-0,27	0,419
Tsl1	117,7	160,3	57,4	111,80	51,70	337	380,4	451,3	389,57	57,70	+6,21	0,021	241,5	110,9	531	294,47	215,00	+1,43	0,178
Pgm2	114,5	148,2	69,7	110,80	39,38	375,6	385,9	550,5	437,33	98,14	+5,35	0,026	488	265,9	656,4	470,10	195,86	+3,11	0,059
Ald4	115,7	166,6	107	129,77	32,19	381	364,3	416,6	387,30	26,71	+10,66	0,008	266,3	55,7	499,2	273,73	221,84	+1,11	0,213
Hxk1	591,4	809,1	427,4	609,30	191,48	1478,1	1968,8	2871,6	2106,17	706,83	+3,54	0,045	505,7	2406,4	2887,4	1933,17	1259,40	+1,80	0,109
Pda1	121,1	181,3	125	142,47	33,69	360,3	409,2	525,8	431,77	85,03	+5,48	0,018	272,7	112,6	513,5	299,60	201,80	+1,33	0,178
Idp1	115,1	156,6	133,2	134,97	20,81	199,1	369	405,5	324,53	110,15	+2,93	0,038	273,3	-8,8	384,7	216,40	202,83	+0,69	0,293
Tal1	431,4	453	449,3	444,57	11,55	507,5	455	563,6	508,70	54,31	+2,00	0,096	432,6	115,1	536,5	361,40	219,54	-0,66	0,294
Hxt3	837,7	908,2	862,6	869,50	35,75	673,2	650,7	619,6	647,83	26,91	-8,58	0,008	128	286,1	204,4	206,17	79,06	-13,24	0,001
Erg3	247,9	240,6	276,8	255,10	19,14	181,6	79,6	73	111,40	60,88	-3,90	0,036	42	-297,6	58,3	-65,77	200,94	-2,75	0,049
Pmi40	108,2	126,4	129,8	121,47	11,61	125,3	115,8	124,3	121,80	5,22	+0,05	0,486	70,1	-165,1	90,3	-1,57	141,98	-1,50	0,141
Hog1	84,7	85,3	89,2	86,40	2,44	81,6	79,7	136	99,10	31,97	+0,69	0,267	79	-236,7	102,5	-18,40	189,42	-0,96	0,218
Cwp1	201,7	240,9	164,3	202,30	38,30	67,3	50,5	36,2	51,33	15,57	-6,32	0,008	16,8	-202,4	32,5	-51,03	131,32	-3,21	0,060
Mdh2	82,6	237,1	158,3	159,33	77,26	133	126,1	228,1	162,40	57,00	+0,06	0,481	189,5	-186,7	288,9	97,23	250,87	-0,41	0,382
Erg10	231,1	246,8	296,2	258,03	33,97	283,6	275	315,9	291,50	21,56	+1,44	0,038	237,7	-56,6	290,8	157,30	187,14	-0,92	0,213
Lsc1	35,4	59,7	46,7	47,27	12,16	137,8	165,5	207,9	170,40	35,31	+5,71	0,012	262	-136,6	229,6	118,33	221,37	+0,56	0,325
Pdr5	662,1	753,7	453,1	622,97	154,07	702,7	542,5	562,4	602,53	87,32	-0,20	0,427	499,4	52,3	398,3	316,67	234,46	-1,89	0,133
Dur1	36,1	29,6	21,2	28,97	7,47	25,2	34,6	46	35,27	10,42	+0,85	0,302	252,7	-292,2	58,4	6,30	276,16	-0,14	0,450
Uga1	62,9	85,6	34,2	60,90	25,76	190,4	209,7	290,4	230,17	53,05	+4,97	0,030	310,3	-60,1	384	211,40	238,00	+1,09	0,212
Gpd2	167,7	188,2	217,1	191,00	24,82	369,5	225,7	245,2	280,13	78,01	+1,89	0,127	207,2	-14,5	254,5	149,07	143,61	-0,50	0,327

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 11

Белки	SOV8 (контроль)					SOV8 (МИК/2)							SOV8 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	675,7	620	465	586,90	109,18	385,4	623,3	675,5	561,40	154,64	-0,23	0,438	747,7	264,1	725,8	579,20	273,10	-0,05	0,485
Ahp1	6864,6	7148,6	5975	6662,73	612,29	5781,2	5724,3	6824,8	6110,10	619,60	-1,10	0,258	5829	5687,2	6045,3	5853,83	180,34	-2,20	0,109
Grx1	11,5	12	7	10,17	2,75	19,9	10,9	33,7	21,50	11,48	+1,66	0,150	33,3	-277,6	44,6	-66,57	182,85	-0,73	0,273
Uth1	-10,3	-12,8	1,9	-7,07	7,87	-20,9	11,3	-9,1	-6,23	16,29	+0,08	0,475	-7,9	-331,8	9,7	-110,00	192,29	-0,93	0,221
Yhb1	357,5	386,1	406,5	383,37	24,61	264,7	218,4	163,1	215,40	50,87	-5,15	0,030	208,1	-190,1	179,5	65,83	222,11	-2,46	0,068
Tsa1	1795,9	1664,5	1902,3	1787,57	119,12	2525,1	1888,3	2418,3	2277,23	341,03	+2,35	0,040	2233,8	1448,9	2504,5	2062,40	548,28	+0,85	0,193
Sod1	1167	1158,4	1101,6	1142,33	35,54	1344,5	1372,4	1544,9	1420,60	108,55	+4,22	0,039	1327,5	686,5	1489,6	1167,87	424,68	+0,10	0,465
Trx2	589,6	667,1	417,7	558,13	127,64	1050,4	886,3	1207,8	1048,17	160,76	+4,13	0,049	1319,2	1345,1	1306,5	1323,60	19,67	+10,27	0,003
Ssa2	160,4	7654,2	9924,7	5913,10	5109,69	6854,7	6276,3	6409,4	6513,47	302,92	+0,20	0,432	3876,1	226,4	5679,6	3260,70	2778,20	-0,79	0,254
Ssa1	41,6	9691,3	7780,7	5837,87	5109,81	13126,7	12602	13398,5	13042,40	404,89	+2,43	0,071	13577,3	11809,1	13778,2	13054,87	1083,53	+2,39	0,082
Ssa4	36,7	61,5	22,7	40,30	19,65	101	92,9	139,9	111,27	25,13	+3,85	0,052	281	-96,7	252,7	145,67	210,37	+0,86	0,254
Ypk1	62,1	78,6	64,9	68,53	8,83	77,2	69,5	96,7	81,13	14,02	+1,32	0,200	76,3	-19,9	108,5	54,97	66,81	-0,35	0,392
Sti1	717	756,8	1025,6	833,13	167,86	773,8	793,2	963,3	843,43	104,26	+0,09	0,403	786,9	162,6	1011	653,50	439,65	-0,66	0,240
Bat2	298,7	239,4	224,4	254,17	39,29	362	346,7	291,9	333,53	36,86	+2,55	0,015	224,3	-22,1	272,4	158,20	157,99	-1,02	0,199
Tdh1	202,1	152,3	103,6	152,67	49,25	546,2	530,6	693,7	590,17	90,00	+7,39	0,015	1895,7	1220,8	1714,5	1610,33	349,30	+7,16	0,009
Hsp12	617,1	443,5	49,6	370,07	290,79	1567,8	2115	4181,9	2621,57	1378,71	+2,77	0,072	4382,9	3837,5	4544,1	4254,83	370,30	+14,29	0,003
Hsp104	523	451,4	412,7	462,37	55,96	811,8	1029,5	1510,9	1117,40	357,74	+3,13	0,055	1686,8	1240,4	1728,7	1551,97	270,64	+6,83	0,010
Hsp78	80,3	101,8	60,1	80,73	20,85	204,8	245,9	276	242,23	35,74	+6,76	0,014	330,3	6,7	347,9	228,30	192,11	+1,32	0,175
Nth1	53	67,3	33,8	51,37	16,81	104,8	103	149	118,93	26,05	+3,77	0,054	163	119,3	178,9	153,73	30,86	+5,05	0,032
Sse1	153,3	165,7	151,2	156,73	7,84	317,7	262,4	201,1	260,40	58,33	+3,05	0,045	148	-154,7	175,7	56,33	183,28	-0,95	0,229
Hsc82	3568,8	3458,3	4473,2	3833,43	556,80	3466,7	3126,8	3109,7	3234,40	201,36	-1,75	0,131	2236,1	2270,8	2667,3	2391,40	239,57	-4,12	0,008
Tps1	335,5	499,8	182,5	339,27	158,68	725,2	735,5	843,3	768,00	65,41	+4,33	0,037	811,1	502,8	939,9	751,27	224,61	+2,59	0,101
Nsr1	566,3	464,9	1001,3	677,50	284,97	212,5	229	197,9	213,13	15,56	-2,82	0,058	173,2	15,7	182	123,63	93,58	-3,20	0,027
Pgk1	5587,4	5780	6422,8	5930,07	437,45	5524,3	5876,6	5959,3	5786,73	231,00	-0,50	0,240	5567	488,8	6132,8	4062,87	3108,13	-1,03	0,195
Hsp42	58	51,6	31,2	46,93	14,00	231	195,4	287,1	237,83	46,23	+6,85	0,015	369,3	1,5	404,2	258,33	223,11	+1,64	0,125
Aha1	184,6	178,4	206,8	189,93	14,93	181,5	176	258,1	205,20	45,90	+0,55	0,243	304	-19,8	323,1	202,43	192,70	+0,11	0,458
Hsp26	-3,1	-3,9	-7,6	-4,87	2,40	38,6	75	68,9	60,83	19,49	+5,79	0,016	257,1	-35,6	267,6	163,03	172,10	+1,69	0,117
Ydj1	625,1	430,4	829,9	628,47	199,77	564,9	581,6	598,2	581,57	16,65	-0,41	0,357	556,2	223,1	646,9	475,40	223,15	-0,89	0,035
Pre4	302,1	442,5	327,1	357,23	74,89	337,9	324,3	362,8	341,67	19,52	-0,35	0,395	341,1	34,3	366	247,13	184,74	-0,96	0,269
Htb2	1558	1599,9	1497,8	1551,90	51,32	1643,8	886,3	1025,1	1185,07	403,29	-1,56	0,131	666,3	79,6	813,1	519,67	388,11	-4,57	0,027
Bmh1	936,7	993	932,2	953,97	33,88	1178,8	1151,5	1310,2	1213,50	84,85	+4,92	0,028	1146,3	84,8	1224,8	818,63	636,73	-0,37	0,380

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 12 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние SDS на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	SDS (контроль)					SDS (МИК/2)							SDS (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	71,4	78	110,6	86,67	20,99	74,2	80,2	89,8	81,40	7,87	-0,41	0,284	121,7	180,8	99,2	133,90	42,15	+1,74	0,144
His7	142,6	148,5	158	149,70	7,77	110,3	126,3	147,4	128,00	18,61	-1,86	0,037	123,7	179,4	136,1	146,40	29,24	-0,19	0,432
Trp3	110,2	117,4	134,5	120,70	12,48	101,3	108,3	123,4	111,00	11,29	-1,00	0,003	104,8	192,9	111,5	136,40	49,04	+0,54	0,328
Aro2	140,3	171,4	179,9	163,87	20,85	106,2	130,9	147,5	128,20	20,78	-2,10	0,002	100	499,2	129,2	242,80	222,53	+0,61	0,295
Lys1	445,8	510,2	487,4	481,13	32,65	428,3	437,2	458,2	441,23	15,35	-1,92	0,071	387,8	213,8	452,5	351,37	123,45	-1,76	0,130
Hom2	195,1	214,7	263,3	224,37	35,11	172,7	164,3	195,8	177,60	16,31	-2,09	0,035	142,6	160,3	166,8	156,57	12,52	-3,15	0,021
Aro3	125,8	131,7	145,8	134,43	10,28	130,6	116,3	145,6	130,83	14,65	-0,35	0,307	106,5	476,8	115,8	233,03	211,16	+0,81	0,254
Car1	470,8	519,4	522,2	504,13	28,90	352,9	320,7	444,7	372,77	64,34	-3,23	0,033	341,2	232,8	428,3	334,10	97,94	-2,88	0,051
Sam4	202,3	202,3	198,5	201,03	2,19	185,7	167,3	181,1	178,03	9,58	-4,06	0,031	172,8	49,5	190,5	137,60	76,81	-1,43	0,147
Sui2	-1,5	-17,3	-8,5	-9,10	7,92	-5,4	-16,5	-8,6	-10,17	5,71	-0,19	0,268	-1,4	218,9	-6,4	70,37	128,66	+1,07	0,209
Gcv3	101,9	99,4	108,6	103,30	4,76	130,1	105,3	119,3	118,23	12,43	+1,94	0,079	145,3	1230,5	125,4	500,40	632,36	+1,09	0,196
Rnr3	1111,8	1153,3	1201	1155,37	44,64	1131,2	1146,6	1187,2	1155,00	28,93	0,01	0,487	1093,2	10741,5	1132,2	4322,30	5559,22	+0,99	0,214
Pdc1	10214,4	10834,9	10042,4	10363,90	416,87	9397,7	10636,2	9448,1	9827,33	700,95	-1,14	0,049	9860,7	206,2	9197,2	6421,37	5392,71	-1,26	0,180
Pvc2	147,1	167,1	168,9	161,03	12,10	150,1	176,3	114,3	146,90	31,12	-0,73	0,279	145,8	149	134,3	143,03	7,73	-2,17	0,101
Tps3	98,7	85,5	75	86,40	11,88	91,5	85,4	68,6	81,83	11,86	-0,47	0,089	98,5	132,9	83,9	105,10	25,16	+1,16	0,164
Tsl1	49,4	38,6	64,9	50,97	13,22	77,7	50,2	49,8	59,23	15,99	+0,69	0,290	85,4	130,4	70,4	95,40	31,22	+2,27	0,110
Pgm2	49,6	44,2	107,8	67,20	35,26	69,8	47,4	84,7	67,30	18,78	-0,00	0,497	56,1	140,8	73,3	90,07	44,77	+0,69	0,307
Ald4	108,9	90	150	116,30	30,68	92,2	81,4	106,4	93,33	12,54	-1,20	0,081	80,9	373	107,8	187,23	161,44	+0,75	0,286
Hxk1	262,9	283,1	773,5	439,83	289,14	293,9	298,8	576,2	389,63	161,59	-0,26	0,283	266,1	134,5	526,3	308,97	199,39	-0,65	0,107
Pda1	108,8	98,4	132,4	113,20	17,42	88,6	72,2	99,6	86,80	13,79	-2,06	0,009	80,6	156,7	94,6	110,63	40,50	-0,10	0,470
Idp1	131,9	132,9	145,9	136,90	7,81	118	76,4	109,7	101,37	22,02	-2,63	0,051	93,5	447,9	110,9	217,43	199,78	+0,70	0,282
Tal1	432	428,1	419,9	426,67	6,18	402,4	334	375,5	370,63	34,46	-2,77	0,051	374,6	888,8	385,9	549,77	293,67	+0,73	0,271
Hxt3	947,2	976,4	930,3	951,30	23,32	849,8	825,9	798,1	824,60	25,87	-6,30	0,007	793,4	245,7	725,8	588,30	298,62	-2,10	0,094
Erg3	255,4	300	364,4	306,60	54,80	209	178,2	276,7	221,30	50,39	-1,98	0,030	161,7	191,1	254	202,27	47,15	-2,50	0,001
Pmi40	135	136,7	127,6	133,10	4,84	120,5	126,7	86	111,07	21,93	-1,70	0,078	113,6	148,6	61,4	107,87	43,88	-0,99	0,190
Hog1	86,9	92,1	100,4	93,13	6,81	80,8	76	52,5	69,77	15,14	-2,44	0,102	73,9	220,7	69,6	121,40	86,02	+0,57	0,316
Cwp1	137,4	145,7	76,6	119,90	37,73	152,9	161,7	93,3	135,97	37,21	+0,53	0,000	166,3	180,9	122,3	156,50	30,50	+1,31	0,009
Mdh2	219,2	230,1	247,3	232,20	14,17	148,1	142,2	170,3	153,53	14,82	-6,65	0,002	124,1	334,6	114,4	191,03	124,43	-0,57	0,316
Erg10	317	325,7	322,6	321,77	4,41	277,7	281,2	306,8	288,57	15,89	-3,49	0,032	253,5	86,3	272,8	204,20	102,56	-1,98	0,097
Lsc1	44,5	24,6	53,3	40,80	14,70	37,4	31,8	57,6	42,27	13,57	+0,13	0,384	33,2	459,6	34,2	175,67	245,89	+0,95	0,232
Pdr5	397,1	348,4	350,7	365,40	27,48	383,1	372,5	386,3	380,63	7,22	+0,93	0,208	380,7	108,8	396,7	295,40	161,80	-0,74	0,252
Dur1	72,6	46	62,4	60,33	13,42	61,7	52	66,6	60,10	7,43	-0,03	0,485	45,5	113,3	43,7	67,50	39,67	+0,30	0,417
Uga1	46,5	36,4	43,8	42,23	5,23	54,9	46,6	42,6	48,03	6,27	+1,23	0,121	48,3	234,7	43,3	108,77	109,09	+1,06	0,209
Gpd2	304,2	298,9	306,5	303,20	3,90	263,9	247,6	281,3	264,27	16,85	-3,90	0,018	232,6	626,4	254,9	371,30	221,20	+0,53	0,326

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 12

Белки	SDS (контроль)					SDS (МИК/2)							SDS (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	404,4	334,6	311,4	350,13	48,41	580,6	487,5	420,4	496,17	80,45	+2,69	0,009	611	3701,9	432	1581,63	1838,38	+1,16	0,184
Ahp1	2886,7	4260,2	3977,8	3708,23	725,34	2773,7	3218,3	3291,4	3094,47	280,19	-1,37	0,076	2899,4	83,2	4125	2369,20	2072,41	-1,06	0,223
Grx1	23,5	13,4	16,7	17,87	5,15	19,7	16,8	17,2	17,90	1,57	+0,01	0,494	21,5	68,5	20,5	36,83	27,43	+1,18	0,203
Uth1	2,7	-2,1	-6	-1,80	4,36	9,7	-2,2	-11,2	-1,23	10,48	+0,09	0,444	2,5	569,8	-9,8	187,50	331,14	+0,99	0,213
Yhb1	559,7	691,6	736,9	662,73	92,06	406,4	494,5	499,5	466,80	52,37	-3,20	0,008	353,2	1558,6	412,4	774,73	679,49	+0,28	0,398
Tsa1	1677,9	1653,7	1608,8	1646,80	35,06	1575,7	1515,3	1383,4	1491,47	98,34	-2,58	0,026	1523,9	1047,5	1532,7	1368,03	277,62	-1,73	0,117
Sod1	1024,1	1051,7	954,5	1010,10	50,09	1067,7	988,7	901,4	985,93	83,18	-0,43	0,275	1068,1	270,4	1027,1	788,53	449,18	-0,85	0,256
Trx2	153,5	158,7	264,2	192,13	62,47	151,5	72,6	131,4	118,50	41,00	-1,71	0,097	181,5	9646,4	282,7	3370,20	5435,58	+1,01	0,210
Ssa2	9652,8	9415,2	8808,6	9292,20	435,33	9274,4	9182,6	8891,7	9116,23	199,80	-0,64	0,163	9687,4	5786,6	9351,5	8275,17	2161,70	-0,80	0,260
Ssa1	5726,2	4993	7246	5988,40	1149,16	5573,5	5033,4	6285,7	5630,87	628,12	-0,47	0,182	5904,3	98,8	6920	4307,70	3680,22	-0,76	0,203
Ssa4	36,5	30,6	43	36,70	6,20	41,5	43,8	58,6	47,97	9,28	+1,75	0,036	42,8	124	40,2	69,00	47,65	+1,16	0,201
Ypk1	86,3	78,7	73,1	79,37	6,63	78,5	74,5	70,8	74,60	3,85	-1,08	0,049	70,9	802,7	69	314,20	423,05	+0,96	0,219
Sti1	936,4	937,4	981,8	951,87	25,93	775,9	716,9	868,3	787,03	76,31	-3,54	0,017	780,8	381,3	889,2	683,77	267,49	-1,73	0,103
Bat2	248,8	257,7	210,4	238,97	25,14	251,7	290,7	252,8	265,07	22,21	+1,35	0,080	252,5	188,9	278,5	239,97	46,10	+0,03	0,491
Tdh1	120,2	76,5	247,2	147,97	88,67	232,5	138,5	494,2	288,40	184,32	+1,19	0,063	250,6	35,5	393	226,37	179,98	+0,68	0,160
Hsp12	33,5	32,5	65	43,67	18,48	33,1	36,7	42,2	37,33	4,58	-0,58	0,263	29,7	445,3	37,7	170,90	237,67	+0,92	0,234
Hsp104	331,1	315,9	350,2	332,40	17,19	376,7	351,5	364,8	364,33	12,61	+2,59	0,036	391,3	119,3	410,9	307,17	162,99	-0,27	0,398
Hsp78	77,3	54,2	61,1	64,20	11,86	75,2	59	61,7	65,30	8,68	+0,13	0,319	74,8	110,2	66,2	83,73	23,32	+1,29	0,199
Nth1	46,5	37,6	28	37,37	9,25	56,7	45,7	33,6	45,33	11,55	+0,93	0,013	53,2	250,8	43,9	115,97	116,86	+1,16	0,182
Sse1	197,6	178,4	192,4	189,47	9,93	207,7	185,7	213,1	202,17	14,51	+1,25	0,045	207,4	4137,4	195,9	1513,57	2272,31	+1,01	0,210
Hsc82	4122,1	4094,9	3778,3	3998,43	191,13	3891,8	4000,9	3805,8	3899,50	97,78	-0,80	0,158	4056,4	316,4	4093,1	2821,97	2169,96	-0,94	0,231
Tps1	191,7	185,4	186,9	188,00	3,29	248,3	201,8	191,5	213,87	30,26	+1,47	0,121	285,2	738,9	222,7	415,60	281,72	+1,40	0,150
Nsr1	1028,3	1106,8	1187,3	1107,47	79,50	827,1	853,7	990,2	890,33	87,50	-3,18	0,003	624,8	6671,9	916,2	2737,63	3410,29	+0,83	0,247
Pgk1	6270,2	6439,6	6169,4	6293,07	136,54	6483,6	6713,6	6194,5	6463,90	260,11	+1,01	0,075	6229,3	99,4	6201,3	4176,67	3531,04	-1,04	0,211
Hsp42	21,7	15,6	26,7	21,33	5,56	41,2	18,2	28,3	29,23	11,53	+1,07	0,153	35,2	237,4	36,5	103,03	116,37	+1,21	0,182
Aha1	155,4	185,5	145,1	162,00	20,99	168,2	152,1	110,1	143,47	30,00	-0,88	0,179	157,3	64,1	89	103,47	48,25	-1,93	0,121
Hsp26	1,7	-5,7	19,8	5,27	13,12	6	2	2,4	3,47	2,20	-0,23	0,420	1,5	866,7	6,5	291,57	498,09	+1,00	0,216
Ydj1	814,9	900,2	782,5	832,53	60,80	793,4	804,2	714,9	770,83	48,74	-1,37	0,052	807,4	398,4	723,5	643,10	216,03	-1,46	0,175
Pre4	341,4	378,5	353,2	357,70	18,95	329,6	341,9	337	336,17	6,19	-1,87	0,053	320,6	1469,3	334	707,97	659,37	+0,92	0,222
Htb2	1405,6	1451,2	1406,6	1421,13	26,04	1402	1421,5	1394,6	1406,03	13,90	-0,89	0,094	1366,5	951,3	1397,4	1238,40	249,12	-1,26	0,184
Bmh1	878	941,7	889,5	903,07	33,95	902,1	886,9	881,7	890,23	10,60	-0,63	0,316	902,4	67,2	894,8	621,47	480,02	-1,01	0,221

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 13 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние Ala-54 на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	Ala-54 (контроль)					Ala-54 (МИК/2)							Ala-54 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	-4,8	42,1	18,65	18,65	23,45	9,4	124,2	66,8	66,80	57,40	+1,35	0,067	53,2	100,5	76,85	76,9	23,7	+3,0	0,0000
His7	79	133,9	106,45	106,45	27,45	42,9	105,8	74,35	74,35	31,45	-1,33	0,003	100,6	130,1	115,35	115,4	14,8	+0,5	0,1744
Trp3	53,8	92	72,9	72,9	19,1	85,2	114,4	99,8	99,80	14,60	+1,94	0,005	90,6	113,3	101,95	102,0	11,4	+2,3	0,0115
Aro2	123,5	130,3	126,9	126,9	3,4	47	92,2	69,6	69,60	22,60	-4,34	0,018	108,9	139,3	124,1	124,1	15,2	-0,3	0,3605
Lys1	441,9	490,2	466,05	466,05	24,15	529,1	145,9	337,5	337,50	191,60	-1,15	0,205	200,3	227,4	213,85	213,9	13,6	-15,8	0,0003
Hom2	119,1	163,5	141,3	141,3	22,2	45,1	83,2	64,15	64,15	19,05	-4,57	0,000	58,2	97,5	77,85	77,9	19,7	-3,7	0,0003
Aro3	97,4	88,9	93,15	93,15	4,25	417,9	294,6	356,25	356,25	61,65	+7,37	0,008	125	162,3	136,15	141,2	19,1	+4,2	0,0352
Car1	511,4	559	535,2	535,2	23,8	294,1	332	313,05	313,05	18,95	-12,65	0,000	313,8	387	350,4	350,4	36,6	-7,3	0,0008
Sam4	173,5	186	179,75	179,75	6,25	297,8	142,6	220,2	220,20	77,60	+0,90	0,246	144,1	135,6	139,85	139,9	4,3	-9,1	0,0112
Sui2	-25	-18,5	-21,75	-21,75	3,25	57,7	-46,5	5,6	5,60	52,10	+0,91	0,241	531,3	-16,1	257,6	257,6	273,7	+1,8	0,1114
Gcv3	108,5	58,5	83,5	83,5	25	105,1	112,1	108,6	108,60	3,50	+1,72	0,133	142,8	105,3	124,05	124,1	18,7	+2,2	0,0039
Rnr4	1123,9	1151,1	1137,5	1137,5	13,6	1011,6	1475,5	1243,55	1243,55	231,95	+0,79	0,244	1433,1	1330,1	1381,6	1381,6	51,5	+7,9	0,0114
Pdc1	10184,8	10698,1	10441,45	10441,45	256,65	11247,8	292,9	5770,35	5770,35	5477,45	-1,48	0,147	11280,9	267,9	5774,4	5774,4	5506,5	-1,5	0,1479
Pyc2	112,6	170,7	141,65	141,65	29,05	76,4	47,3	61,85	61,85	14,55	-4,25	0,043	133,5	165,7	149,6	149,6	16,1	+0,4	0,1995
Tps3	68,9	83,9	76,4	76,4	7,5	37,4	119,8	78,6	78,60	41,20	+0,09	0,460	131,1	149,7	140,4	140,4	9,3	+9,3	0,0001
Tsl1	69,6	67,1	68,35	68,35	1,25	180,5	762,8	471,65	471,65	291,15	+2,40	0,070	157,9	195,1	176,5	176,5	18,6	+10,0	0,0055
Pgm2	76	97,9	86,95	86,95	10,95	294,6	560,3	427,45	427,45	132,85	+4,42	0,020	95,1	190,7	142,9	142,9	47,8	+2,0	0,0596
Ald4	130,1	118,2	124,15	124,15	5,95	140,5	263	201,75	201,75	61,25	+2,18	0,092	119,4	167,8	143,6	143,6	24,2	+1,4	0,1900
Hxk1	429,2	641,5	535,35	535,35	106,15	2164,3	1044,2	1604,25	1604,25	560,05	+3,25	0,054	640,1	1098	869,05	869,1	229,0	+2,3	0,0211
Pda1	138,2	157,2	147,7	147,7	9,5	482,8	163,3	323,05	323,05	159,75	+1,90	0,107	123,4	161,5	142,45	142,5	19,1	-0,4	0,2208
Idp1	104,1	147,6	125,85	125,85	21,75	496,7	170	333,35	333,35	163,35	+2,18	0,096	103,4	132	117,7	117,7	14,3	-0,5	0,0993
Tal1	446,9	546,4	496,65	496,65	49,75	505	187,4	346,2	346,20	158,80	-1,57	0,169	476,7	608,1	542,4	542,4	65,7	+1,0	0,0191
Hxt3	877,8	1010,6	944,2	944,2	66,4	1229,3	1071,7	1150,5	1150,50	78,80	+3,47	0,066	952,1	994,9	973,5	973,5	21,4	+0,7	0,1883
Erg3	400,8	417,4	409,1	409,1	8,3	967,1	486,9	727	727,00	240,10	+2,29	0,078	333,3	406,7	370	370,0	36,7	-1,8	0,0699
Pmi40	94,5	124,8	109,65	109,65	15,15	80,2	250,4	165,3	165,30	85,10	+1,12	0,151	122,4	266	194,2	194,2	71,8	+2,0	0,0613
Hog1	52,1	79,6	65,85	65,85	13,75	56,5	17,9	37,2	37,20	19,30	-2,09	0,136	82,7	100,5	91,6	91,6	8,9	+2,7	0,0058
Cwp1	187,8	234,7	211,25	211,25	23,45	93,4	220,8	157,1	157,10	63,70	-1,38	0,073	343,2	264,1	303,65	303,7	39,5	+3,5	0,0631
Mdh2	160,2	167,5	163,85	163,85	3,65	160,7	365,3	263	263,00	102,30	+1,68	0,112	97,4	200,8	149,1	149,1	51,7	-0,5	0,3240
Erg10	348,4	326,2	337,3	337,3	11,1	466,4	295,9	381,15	381,15	85,25	+0,88	0,207	319,8	282,3	301,05	301,1	18,8	-2,9	0,0073
Lsc1	64,4	47,6	56	56	8,4	31,4	828,7	430,05	430,05	398,65	+1,62	0,126	38,8	72,1	55,45	55,5	16,7	-0,1	0,4866
Pdr5	355,3	359,1	357,2	357,2	1,9	705,3	863,1	784,2	784,20	78,90	+9,37	0,005	1092	1183,1	1137,55	1137,6	45,6	+29,6	0,0005
Dur1	-1	3,3	1,15	1,15	2,15	-10,2	-24,2	-17,2	-17,20	7,00	-4,34	0,037	-23,1	-6,5	-14,8	-14,8	8,3	-3,2	0,0231
Uga1	-3,5	45,8	21,15	21,15	24,65	73,7	86,8	80,25	80,25	6,55	+4,01	0,015	58,9	140,7	99,8	99,8	40,9	+2,9	0,0070
Gpd2	234,3	256,2	245,25	245,25	10,95	206,7	228,7	217,7	217,70	11,00	-3,07	0,000	192,7	205,9	199,3	199,3	6,6	-6,2	0,0015

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 13

Белки	Ala-54 (контроль)					Ala-54 (МИК/2)							Ala-54 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	460,1	423,7	441,9	441,9	18,2	616,6	800,4	708,5	708,50	91,90	+4,93	0,026	1197,3	984,8	1091,05	1091,1	106,3	+10,4	0,0030
Ahp1	6368,5	7088,8	6728,65	6728,65	360,15	6777,3	8498,8	7638,05	7638,05	860,75	+1,69	0,044	8268,9	8024	8146,45	8146,45	122,45	+6,46	0,018
Grx1	-22,1	8,2	-6,95	-6,95	15,15	-67,3	453,3	193	193,00	260,30	+1,33	0,147	-5	6,5	0,75	0,75	5,75	+0,82	0,146
Uth1	-46,7	-23,4	-35,05	-35,05	11,65	-90,5	429,9	169,7	169,70	260,20	+1,36	0,145	-30,7	-28,2	-29,45	-29,45	1,25	+0,83	0,225
Yhb1	390,3	476,8	433,55	433,55	43,25	159,7	1504	831,85	831,85	672,15	+1,02	0,194	84,4	114,5	99,45	99,45	15,05	-12,64	0,001
Tsa1	1553,3	1765	1659,15	1659,15	105,85	1763,1	2255,5	2009,3	2009,30	246,20	+2,26	0,025	1965,5	2083,1	2024,3	2024,30	58,80	+5,22	0,003
Sod1	1027,7	1129,6	1078,65	1078,65	50,95	1758,2	2228,6	1993,4	1993,40	235,20	+6,58	0,007	1058,4	1272,1	1165,25	1165,25	106,85	+1,27	0,058
Trx2	344	89,9	216,95	216,95	127,05	1226,1	500,5	663,3	796,63	380,73	+2,50	0,031	818,7	827,1	822,9	822,90	4,20	+8,26	0,008
Ssa2	9073,3	9238,1	9155,7	9155,7	82,4	8846,5	5661,3	7253,9	7253,90	1592,60	-2,07	0,094	9498,1	7427,2	8462,65	8462,65	1035,45	-1,16	0,198
Ssa1	6948,4	7439	7193,7	7193,7	245,3	9869,6	6519,6	8194,6	8194,60	1675,00	+1,02	0,231	7489,3	7513,6	7501,45	7501,45	12,15	+2,17	0,075
Ssa4	19,9	58,9	39,4	39,4	19,5	52,6	256,5	154,55	154,55	101,95	+1,92	0,068	-4	146,5	71,25	71,25	75,25	+0,71	0,213
Ypk1	26	92	59	59	33	30,9	107,8	69,35	69,35	38,45	+0,35	0,041	91,1	210,4	150,75	150,75	59,65	+2,33	0,013
Sti1	880,1	1010,9	945,5	945,5	65,4	641,3	847,8	744,55	744,55	103,25	-2,85	0,006	799,6	853,1	826,35	826,35	26,75	-2,92	0,017
Bat2	276,7	243,3	260	260	16,7	390,5	293,1	341,8	341,80	48,70	+2,75	0,024	231,7	303,9	267,8	267,80	36,10	+0,34	0,411
Tdh1	59,9	171,4	115,65	115,65	55,75	67,4	163,2	115,3	115,30	47,90	-0,01	0,473	91,3	336,4	213,85	213,85	122,55	+1,26	0,063
Hsp12	96,2	210,5	153,35	153,35	57,15	621,4	859,8	740,6	740,60	119,20	+7,69	0,002	1018,5	957,9	988,2	988,20	30,30	+22,35	0,002
Hsp104	386,5	433,5	410	410	23,5	690,9	563,4	627,15	627,15	63,75	+5,54	0,025	557,5	781,3	669,4	669,40	111,90	+3,93	0,018
Hsp78	132,6	88,2	110,4	110,4	22,2	335	95,4	215,2	215,20	119,80	+1,49	0,102	1109,5	162,6	636,05	636,05	473,45	+1,92	0,091
Nth1	79,1	56,9	68	68	11,1	99	72,8	85,9	85,90	13,10	+1,81	0,002	164,6	144,8	154,7	154,70	9,90	+10,10	0,000
Sse1	214,5	210,9	212,7	212,7	1,8	374	100,3	237,15	237,15	136,85	+0,31	0,392	84,6	133,5	109,05	109,05	24,45	-7,32	0,010
Hsc82	4078,3	4183	4130,65	4130,65	52,35	4005,6	3659,9	3832,75	3832,75	172,85	-2,86	0,075	4206,2	3846	4026,1	4026,10	180,10	-0,97	0,259
Tps1	179,9	260	219,95	219,95	40,05	860,1	527,6	693,85	693,85	166,25	+4,80	0,029	538,5	541,5	540	540,00	1,50	+13,83	0,002
Nsr1	1061,3	1133,6	1097,45	1097,45	36,15	535,2	753	644,1	644,10	108,90	-6,84	0,004	489,4	534	511,7	511,70	22,30	-23,89	0,000
Pgk1	6658,9	6812,5	6735,7	6735,7	76,8	5665,6	6751,9	6208,75	6208,75	543,15	-1,66	0,095	6170,2	6982,6	6576,4	6576,40	406,20	-0,67	0,245
Hsp42	31,3	44,1	37,7	37,7	6,4	110,6	37,9	74,25	74,25	36,35	+1,72	0,138	69,2	83,6	76,4	76,40	7,20	+6,96	0,000
Aha1	137,3	192,2	164,75	164,75	27,45	74,8	157,1	115,95	115,95	41,15	-1,71	0,013	191,2	172,3	181,75	181,75	9,45	+1,01	0,254
Hsp26	-30	6,3	-11,85	-11,85	18,15	-21,4	-6,5	-13,95	-13,95	7,45	-0,19	0,383	-17,4	26	4,3	4,30	21,70	+0,99	0,008
Ydj1	703,3	789	746,15	746,15	42,85	647,8	687,1	667,45	667,45	19,65	-2,89	0,014	682,7	59,2	370,95	370,95	311,75	-2,07	0,104
Pre4	321,9	351,8	336,85	336,85	14,95	266	396,3	331,15	331,15	65,15	-0,15	0,431	385,4	424,1	404,75	404,75	19,35	+4,81	0,001
Htb2	1572,5	1533,9	1553,2	1553,2	19,3	1412,6	1709,3	1560,95	1560,95	148,35	+0,09	0,472	1675,1	1365	1520,05	1520,05	155,05	-0,37	0,357
Bmh1	1000,1	1048,2	1024,15	1024,15	24,05	1195	1329,5	1262,25	1262,25	67,25	+5,77	0,005	1297,3	1340,9	1319,1	1319,10	21,80	+15,74	0,000

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 14 - Результаты t-теста Стьюдента, анализирующего влияние L-173 на изменение уровня флуоресценции белка GFP при концентрациях 0,5х МИК и 1х МИК.

Белки	L-173 (контроль)					L-173 (МИК/2)							L-173 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gcv2	71	76,8	73,9	73,90	2,90	115,7	103	109,35	109,35	6,35	+8,80	0,011	124,2	84,5	104,35	104,35	19,85	+2,63	0,073
His7	122,1	129,6	125,85	125,85	3,75	131	122,2	126,6	126,60	4,40	+0,22	0,444	124,7	117,7	121,2	121,20	3,50	-1,57	0,191
Trp3	89,3	100,7	95	95,00	5,70	104,7	121,6	113,15	113,15	8,45	+3,08	0,004	99	116	107,5	107,50	8,50	+2,12	0,008
Aro2	123,9	132,9	128,4	128,40	4,50	124,2	129,5	126,85	126,85	2,65	-0,51	0,142	105,4	119,3	112,35	112,35	6,95	-3,36	0,004
Lys1	334,5	412,9	373,7	373,70	39,20	359,9	401,4	380,65	380,65	20,75	+0,27	0,291	333,2	342,6	337,9	337,90	4,70	-1,57	0,107
Hom2	133,2	164,3	148,75	148,75	15,55	168,1	159	163,55	163,55	4,55	+1,58	0,165	121,7	124,7	123,2	123,20	1,50	-2,83	0,044
Aro3	101,6	113,1	107,35	107,35	5,75	127,5	118,3	122,9	122,90	4,60	+3,66	0,061	103,6	101,9	102,75	102,75	0,85	-1,37	0,175
Car1	417,4	396	406,7	406,70	10,70	475,2	414,7	444,95	444,95	30,25	+2,06	0,039	339,9	432,5	386,2	386,20	46,30	-0,75	0,298
Sam4	176,1	182,5	179,3	179,30	3,20	160	161,9	160,95	160,95	0,95	-9,52	0,002	147,2	156,6	151,9	151,90	4,70	8,35	0,000
Sui2	-7,1	-15,5	-11,3	-11,30	4,20	4,5	-21,3	-8,4	-8,40	12,90	+0,37	0,311	-7,6	-26,9	-17,25	-17,25	9,65	0,98	0,100
Gcv3	101,3	85,5	93,4	93,40	7,90	139,6	96,8	118,2	118,20	21,40	+1,88	0,043	146	109,2	127,6	127,60	18,40	+2,96	0,015
Rnr4	1211,3	1123,5	1167,4	1167,40	43,90	1239,5	1143,6	1191,55	1191,55	47,95	+0,64	0,005	1174,9	1169,4	1172,15	1172,15	2,75	+0,19	0,430
Pdc1	10341	10302,6	10321,8	10321,8	19,20	10618,2	10371,9	10495,05	10495,05	123,15	+2,41	0,051	9878,8	10337,8	10108,3	10108,30	229,50	-1,61	0,138
Pyc2	152,9	150,6	151,75	151,75	1,15	162,1	152,4	157,25	157,25	4,85	+1,91	0,062	148,2	145,1	146,65	146,65	1,55	-4,58	0,001
Tps3	78,7	79,7	79,2	79,20	0,50	95	78,1	86,55	86,55	8,45	+1,50	0,145	98,8	86,4	92,6	92,60	6,20	+3,73	0,037
Tsl1	64,1	61,8	62,95	62,95	1,15	88,4	39,4	63,9	63,90	24,50	+0,07	0,475	104,7	51,7	78,2	78,20	26,50	+1,00	0,203
Pgm2	70,4	81,6	76	76,00	5,60	71,6	50,6	61,1	61,10	10,50	-2,17	0,125	76,8	51,6	64,2	64,20	12,60	-1,48	0,189
Ald4	111,1	115,7	113,4	113,40	2,30	106,5	81,4	93,95	93,95	12,55	-2,64	0,076	83,6	74	78,8	78,80	4,80	-11,26	0,007
Hxk1	387,2	524,4	455,8	455,80	68,60	368,8	357,7	363,25	363,25	5,55	-2,33	0,082	486,5	372	429,25	429,25	57,25	-0,51	0,375
Pda1	115,3	121,7	118,5	118,50	3,20	108,1	82	95,05	95,05	13,05	-3,02	0,065	82,9	87,1	85	85,00	2,10	-15,16	0,000
Idp1	112	118,9	115,45	115,45	3,45	111,4	76,8	94,1	94,10	17,30	-2,10	0,108	93,2	96,7	94,95	94,95	1,75	-9,18	0,001
Tal1	371,2	382,3	376,75	376,75	5,55	412,8	257,4	335,1	335,10	77,70	-0,93	0,239	357,6	391,5	374,55	374,55	16,95	-0,21	0,385
Hxt3	847,4	838,7	843,05	843,05	4,35	1279,4	854,2	1066,8	1066,80	212,60	+1,82	0,102	1013,9	1117,9	1065,9	1065,90	52,00	+7,40	0,010
Erg3	248,3	227,5	237,9	237,90	10,40	706	373,2	539,6	539,60	166,40	+3,13	0,039	542,3	526	534,15	534,15	8,15	+38,83	0,000
Pmi40	142,3	137,7	140	140,00	2,30	143,9	130,2	137,05	137,05	6,85	-0,71	0,189	149,7	138,6	144,15	144,15	5,55	+1,20	0,079
Hog1	85,8	93,3	89,55	89,55	3,75	92,1	72,1	82,1	82,10	10,00	-1,21	0,224	81	64	72,5	72,50	8,50	-3,18	0,069
Cwp1	132,2	124,4	128,3	128,30	3,90	103,8	70,8	87,3	87,30	16,50	-4,19	0,015	121,3	95,5	108,4	108,40	12,90	-2,56	0,031
Mdh2	202,7	229,1	215,9	215,90	13,20	145,7	149,7	147,7	147,70	2,00	-8,85	0,004	127,7	161	144,35	144,35	16,65	-5,83	0,000
Erg10	296	327,5	311,75	311,75	15,75	361,8	357,1	359,45	359,45	2,35	+5,19	0,022	309	332,3	320,65	320,65	11,65	+0,79	0,032
Lsc1	45,6	47	46,3	46,30	0,70	43,7	22,5	33,1	33,10	10,60	-2,15	0,090	30,5	22,5	26,5	26,50	4,00	-8,45	0,009
Pdr5	355,6	399	377,3	377,30	21,70	618,8	617,9	618,35	618,35	0,45	+19,24	0,001	597,8	606,7	602,25	602,25	4,45	+17,59	0,001
Dur1	45	35,8	40,4	40,40	4,60	46,3	20	33,15	33,15	13,15	-0,90	0,140	36,9	13,7	25,3	25,30	11,60	-2,10	0,032
Uga1	35,2	30,6	32,9	32,90	2,30	47,9	35,7	41,8	41,80	6,10	+2,36	0,028	49	36	42,5	42,50	6,50	+2,41	0,029
Gpd2	213,2	219,9	216,55	216,55	3,35	192,1	154,1	173,1	173,10	19,00	-3,90	0,039	142,2	137,5	139,85	139,85	2,35	-32,46	0,001

* П1, П2, ПЗ: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Продолжение таблицы П. 14

Белки	L-173 (контроль)					L-173 (МИК/2)							L-173 (МИК)						
	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*	п1*	п2*	п3*	ср*	со*	t*	p*
Gpd1	438,2	402	420,1	420,10	18,10	646,6	662,2	654,4	654,40	7,80	+20,59	0,002	750,8	668,9	709,85	709,85	40,95	+11,21	0,001
Ahp1	3108,1	2667,7	2887,9	2887,90	220,20	3688,2	2866,5	3277,35	3277,35	410,85	+1,45	0,036	3092,5	2771,8	2932,15	2932,15	160,35	+0,28	0,164
Grx1	16,8	11,7	14,25	14,25	2,55	13,8	5,2	9,5	9,50	4,30	-1,65	0,021	12,6	-0,2	6,2	6,20	6,40	-2,02	0,034
Uth1	6,5	6,1	6,3	6,30	0,20	-1,1	-10,2	-5,65	-5,65	4,55	-4,54	0,021	-3,4	-12,1	-7,75	-7,75	4,35	-5,59	0,014
Yhb1	599,1	664,3	631,7	631,70	32,60	986,8	1094,3	1040,55	1040,55	53,75	+11,26	0,000	827,6	1009,7	918,65	918,65	91,05	+5,14	0,007
Tsa1	1866	1910,5	1888,25	1888,25	22,25	1702,5	1695,3	1698,9	1698,90	3,60	-14,55	0,003	1590,9	1581,6	1586,25	1586,25	4,65	-23,01	0,001
Sod1	1121,4	1081,6	1101,5	1101,50	19,90	1029,5	1010,1	1019,8	1019,80	9,70	-6,39	0,003	943,4	840,8	892,1	892,10	51,30	-6,59	0,004
Trx2	77,1	135,7	106,4	106,40	29,30	58,4	152,6	105,5	105,50	47,10	-0,03	0,469	92,7	72,5	82,6	82,60	10,10	1,33	0,203
Ssa2	9257,1	9150,9	9204	9204,00	53,10	9256,6	9154,1	9205,35	9205,35	51,25	+0,03	0,167	9182,3	9403,4	9292,85	9292,85	110,55	+1,25	0,223
Ssa1	6357,1	6120,9	6239	6239,00	118,10	7261,2	6525,4	6893,3	6893,30	367,90	+2,93	0,023	7894,2	6843,7	7368,95	7368,95	525,25	+3,64	0,020
Ssa4	31,2	33,2	32,2	32,20	1,00	34,1	23,5	28,8	28,80	5,30	-1,09	0,224	33,5	18,5	26	26,00	7,50	-1,42	0,167
Ypk1	68,4	60,9	64,65	64,65	3,75	119,1	104,2	111,65	111,65	7,45	+9,76	0,001	118,9	97	107,95	107,95	10,95	+6,48	0,005
Sti1	878,6	811,3	844,95	844,95	33,65	883,5	822,8	853,15	853,15	30,35	+0,31	0,025	806,3	859,5	832,9	832,90	26,60	-0,49	0,381
Bat2	246,7	219,7	233,2	233,20	13,50	242,3	208	225,15	225,15	17,15	-0,64	0,031	192,1	195,7	193,9	193,90	1,80	-5,00	0,023
Tdh1	135,6	173,9	154,75	154,75	19,15	187,1	149	168,05	168,05	19,05	+0,85	0,304	337,6	148,5	243,05	243,05	94,55	+1,59	0,155
Hsp12	34,8	65,2	50	50,00	15,20	39,2	64,7	51,95	51,95	12,75	+0,17	0,151	42,5	31,2	36,85	36,85	5,65	-1,40	0,194
Hsp104	360,7	391,2	375,95	375,95	15,25	479,7	373,3	426,5	426,50	53,20	+1,58	0,165	517,4	383,5	450,45	450,45	66,95	+1,88	0,129
Hsp78	62,6	77,8	70,2	70,20	7,60	90,6	79	84,8	84,80	5,80	+2,65	0,100	91,9	56,5	74,2	74,20	17,70	+0,36	0,405
Nth1	51,2	46,9	49,05	49,05	2,15	78,5	41,7	60,1	60,10	18,40	+1,03	0,180	92	32,1	62,05	62,05	29,95	+0,75	0,252
Sse1	169,1	157	163,05	163,05	6,05	165	160,4	162,7	162,70	2,30	-0,09	0,443	145	139	142	142,00	3,00	-5,40	0,003
Hsc82	4157,7	3966,4	4062,05	4062,05	95,65	4250,4	4033,4	4141,9	4141,90	108,50	+0,96	0,004	4219	4339,5	4279,25	4279,25	60,25	+3,33	0,069
Tps1	192,9	189	190,95	190,95	1,95	350,6	263,2	306,9	306,90	43,70	+4,59	0,020	419,1	278,6	348,85	348,85	70,25	+3,89	0,029
Nsr1	1035,4	1071,8	1053,6	1053,60	18,20	799,9	834,3	817,1	817,10	17,20	-16,36	0,000	667,5	788,9	728,2	728,20	60,70	-8,89	0,003
Pgk1	6432,1	6284,4	6358,25	6358,25	73,85	7011,4	6770,7	6891,05	6891,05	120,35	+6,54	0,001	6832,5	6830,2	6831,35	6831,35	1,15	+11,09	0,004
Hsp42	26,1	19,2	22,65	22,65	3,45	49,1	26,6	37,85	37,85	11,25	+2,24	0,039	42,6	30,4	36,5	36,50	6,10	+3,42	0,006
Aha1	177,2	173,5	175,35	175,35	1,85	204,8	194,2	199,5	199,50	5,30	+7,45	0,003	204,8	195,5	200,15	200,15	4,65	+8,58	0,002
Hsp26	11,1	12,8	11,95	11,95	0,85	10,7	-3,6	3,55	3,55	7,15	-2,02	0,105	8,6	-14,4	-2,9	-2,90	11,50	-2,23	0,086
Ydj1	798,4	865,3	831,85	831,85	33,45	786,6	785,8	786,2	786,20	0,40	-2,36	0,072	781,6	764,2	772,9	772,90	8,70	-2,95	0,068
Pre4	344	356	350	350,00	6,00	336,9	331,3	334,1	334,10	2,80	-4,16	0,044	329,3	317,7	323,5	323,50	5,80	-5,50	0,030
Htb2	1419,1	1453,6	1436,35	1436,35	17,25	1325,1	1265,3	1295,2	1295,20	29,90	-7,08	0,018	1298,9	1273,1	1286	1286,00	12,90	-12,09	0,007
Bmh1	891,1	937	914,05	914,05	22,95	913,9	840,5	877,2	877,20	36,70	-1,47	0,198	932,1	846,3	889,2	889,20	42,90	-0,88	0,290

* П1, П2, П3: три повторения эксперимента, ср: среднее, со: стандартные отклонения, t:t-статистика, p*: p-значения (значимо, если значение p< 0,05)

Таблица П 15 - Значения Z-критерия тестируемого вещества при концентрации 0,5х МИК

Белки	Флу коназол	Вори коназол	11326083	MP	Микоз идин	ЗВ-Мус	Туника мицин	5FC	Ala-54	SOV-4	SOV-8	SDS	L-173
Gcv2	5,90	10,46	11,35	6,51	6,71	3,09	0,12	2,62	-1,75	8,86	15,99	-0,70	8,18
His7	7,71	4,94	-6,96	-7,72	-10,84	2,48	-5,26	-17,36	-7,41	1,95	27,52	-4,39	6,33
Trp3	11,06	15,36	-0,19	7,57	20,63	6,97	11,17	-9,62	0,12	16,16	32,25	2,52	13,21
Aro2	8,65	1,47	-3,03	-7,39	-1,57	4,30	-0,04	-23,05	-6,26	-2,91	1,85	-8,88	5,06
Lys1	0,87	-8,31	-69,22	-47,78	18,22	4,00	-14,17	-16,48	-1,98	-3,65	29,78	-32,38	-3,72
Hom2	12,23	-6,36	-24,42	-10,80	13,49	8,93	1,52	-11,80	-10,33	14,41	51,49	-1,32	2,94
Aro3	8,15	3,41	-4,81	3,52	24,86	8,63	11,34	5,33	39,92	35,82	42,22	3,44	5,78
Car1	8,80	20,37	-18,58	-22,70	23,37	32,85	38,38	-30,92	-45,04	3,85	-10,61	16,10	14,58
Sam4	0,29	-17,75	-18,95	-30,63	-31,37	-14,44	-13,80	-28,98	0,93	-8,56	-19,10	-35,47	-8,73
Sui2	1,07	0,53	0,76	-0,27	0,25	-1,08	-0,78	-9,19	-2,64	-0,35	5,17	0,35	0,80
Gcv3	11,81	13,88	11,64	12,87	24,27	12,00	8,49	11,20	11,26	44,91	46,94	16,66	12,84
Rnr4	0,42	30,83	-40,60	16,61	19,84	1,79	27,89	-14,32	18,13	-55,12	1,35	-13,21	15,63
Pdc1	16,20	29,62	5,63	15,23	-25,56	53,16	57,83	52,49	-63,73	-76,04	-36,75	20,55	22,91
Pyc2	4,27	-1,55	-4,05	-5,85	2,66	0,77	1,03	-5,38	-3,40	4,60	8,42	3,18	1,36
Tps3	6,99	17,10	7,13	18,72	16,96	9,02	18,55	-2,89	-3,54	22,96	15,20	20,81	12,05
Tsl1	5,18	17,27	53,08	95,95	85,24	44,59	80,00	87,20	55,20	75,81	72,41	52,56	11,22
Pgm2	2,40	14,86	59,87	103,82	102,26	46,38	65,09	70,80	61,75	43,74	59,44	30,11	8,63
Ald4	7,79	11,81	22,88	56,73	39,12	19,76	46,04	31,69	22,48	56,56	60,52	30,70	9,80
Hxk1	-0,69	2,10	100,69	182,85	158,81	71,31	84,18	119,77	79,30	38,19	64,14	39,18	0,71
Pda1	2,06	13,58	33,83	37,56	31,29	20,85	54,71	27,64	24,55	47,23	56,66	35,98	7,82
Idp1	4,27	2,29	15,94	25,22	39,43	25,45	33,05	13,05	32,72	42,68	49,09	29,93	3,28
Tal1	9,25	19,81	14,12	22,09	44,58	27,65	66,66	-9,25	-37,87	16,24	13,00	37,83	14,53
Hxt3	88,24	112,80	-96,01	-66,83	112,05	108,28	-19,40	-60,76	28,00	-42,61	-37,89	4,53	100,52
Pgk1	25,41	58,88	25,58	64,80	92,77	87,20	83,02	7,95	-16,83	-19,06	-5,29	-57,44	42,15
Pmi40	6,67	12,03	3,00	-2,42	13,54	7,70	54,47	-13,42	-3,34	-0,09	-0,25	24,95	9,35
Hog1	2,85	7,16	1,41	3,65	3,34	-2,24	18,63	4,29	-3,50	4,39	4,53	7,53	5,01
Cwp1	-4,96	-9,88	-19,91	-23,17	-9,22	4,43	33,17	20,04	-10,69	33,82	-36,71	-6,09	-7,42
Mdh2	1,86	-2,02	-26,17	-11,39	0,76	-4,93	5,31	-14,30	14,52	-2,29	5,68	-4,99	-0,08
Erg3	116,55	138,52	-7,68	28,25	-28,34	-19,60	-1,33	-50,26	37,02	-26,32	-42,89	1,22	127,53
Erg10	39,56	62,02	-20,99	15,43	-9,08	-7,62	22,38	-29,02	8,68	-6,37	7,93	10,74	50,79
Lsc1	3,36	6,95	19,38	27,76	24,36	10,29	19,17	10,20	66,13	28,73	34,82	27,00	5,15
Pdr5	56,96	159,57	-41,00	-32,55	137,92	113,69	22,40	-14,00	65,53	44,24	-4,05	131,98	108,26
Dur1	6,52	11,74	-6,61	3,59	5,61	5,11	2,50	-2,57	-5,20	2,07	4,02	2,29	9,13
Uga1	8,05	20,27	24,95	42,18	42,22	22,96	43,33	26,39	12,77	40,81	41,77	41,97	14,16
Gpd2	-0,23	-4,21	-29,41	-10,37	5,95	1,01	14,21	0,41	-7,90	-1,70	17,86	-9,68	-2,22
Gpd1	36,25	80,73	28,94	73,30	42,36	24,01	89,19	52,72	48,88	47,61	-2,07	97,14	58,49
Ahp1	-13,06	9,83	105,09	148,86	67,15	54,34	25,03	49,12	30,71	-41,96	-18,96	-7,46	-1,61
Grx1	-1,95	0,67	2,05	3,54	1,79	0,96	4,16	-0,32	-6,82	0,75	2,21	3,83	-0,64
Uth1	0,33	0,66	0,23	2,57	-2,58	0,14	-4,41	-5,13	-6,28	-1,73	1,07	6,28	0,50
Yhb1	81,17	88,94	-17,78	148,09	-11,48	-11,17	-40,52	-32,21	-26,56	-51,69	-27,14	-114,56	85,05
Tsa1	15,02	36,14	12,13	56,62	2,56	21,44	102,07	17,67	38,20	52,77	41,80	38,90	25,58
Sod1	8,51	15,74	137,35	229,95	23,35	17,83	-6,11	50,34	94,47	43,56	34,90	4,02	12,12
Trx2	-1,27	-14,07	84,29	117,75	-27,43	-25,38	-18,03	-37,00	15,06	68,24	76,39	104,12	-7,67
Ssa2	8,82	27,65	-77,91	-36,69	-148,14	-93,91	-3,48	-202,12	-48,29	-56,76	11,41	14,46	18,23
Ssa1	10,33	42,04	93,86	140,59	62,57	14,84	45,80	-0,83	19,09	31,39	70,59	4,31	26,19
Ssa4	1,07	2,49	64,15	53,44	15,40	8,51	14,68	7,15	4,53	3,68	6,21	2,96	1,78
Ypk1	11,90	20,35	-6,68	-1,69	2,41	2,44	21,98	-2,96	0,20	4,26	4,44	7,01	16,13
Sti1	-3,88	14,57	6,18	34,63	-44,94	-43,14	39,53	-32,06	-29,42	-27,13	1,97	-44,53	5,34
Bat2	4,95	10,87	-5,85	8,18	10,59	-1,93	-7,29	-3,52	11,90	17,51	15,43	-9,86	7,91

*Записанные значения в таблице представляют собой среднее значение Z-критерия, полученное в результате трех повторных экспериментов,

Продолжение таблицы П - 15

Белки	Флу коназол	Вори коназол	11326083	MP	Микоз идин	3В-Мус	Туника мицин	5FC	Ala-54	SOV-4	SOV-8	SDS	L-173
Tdh1	7,17	22,00	67,93	162,22	122,43	63,12	81,58	69,35	-1,60	12,84	49,64	33,46	14,58
Hsp12	4,53	11,06	74,29	165,27	114,88	59,21	101,87	102,66	51,74	78,84	78,25	31,05	7,80
Hsp104	17,32	54,70	68,76	145,23	101,80	48,30	110,74	69,22	34,57	76,80	65,73	39,30	36,01
Hsp78	7,14	14,07	48,59	47,76	24,60	10,78	40,09	22,66	12,42	29,45	43,84	14,06	10,61
Nth1	7,87	17,25	10,71	24,33	19,09	5,98	24,56	16,93	6,73	23,54	20,77	16,13	12,56
Sse1	1,63	-4,45	-35,73	-26,51	17,71	10,44	-14,43	-9,57	-3,40	8,96	10,98	-25,09	-1,41
Hsc82	8,97	27,51	-50,50	-11,12	-109,49	-74,63	5,26	-114,38	-15,34	-42,19	-19,02	-15,76	18,24
Tps1	22,17	53,24	85,31	106,29	89,04	45,91	86,23	72,34	71,83	70,71	75,50	35,53	37,71
Nsr1	-27,63	-73,04	-144,69	-127,31	-74,23	-41,61	-70,51	-35,04	-65,04	-119,36	-98,55	-130,13	-50,33
Hsp42	1,80	9,68	20,71	32,22	21,57	10,10	27,94	19,21	5,18	14,31	21,08	8,01	5,74
Aha1	2,77	8,88	12,28	48,33	16,41	-2,29	50,57	-0,40	-14,81	-0,94	4,52	-3,45	5,82
Hsp26	0,63	0,56	5,78	72,02	10,00	4,45	19,76	11,51	-2,99	3,45	14,75	4,22	0,59
Ydj1	14,15	-2,21	-2,46	12,60	-47,03	-20,89	44,05	-5,00	-14,65	-26,38	-11,86	-20,55	5,97
Pre4	7,09	8,97	1,77	20,18	22,73	5,70	31,54	7,91	1,26	8,30	1,68	13,53	8,03
Htb2	1,32	4,56	-48,36	-53,86	-11,03	4,42	-31,43	-70,67	7,15	-16,24	-22,44	-24,84	2,94
Bmh1	19,61	65,82	22,96	59,40	66,16	37,53	91,67	47,02	37,54	50,81	44,05	34,15	42,71

*Записанные значения в таблице представляют собой среднее значение Z-критерия, полученное в результате трех повторных экспериментов,

Таблица П 16 - Значения Z-критерия тестируемого вещества при концентрации 1х МИК

Белки	Флу коназол	Вори коназол	11326083	МР	Микоз идин	ЗВ-Мус	Туника мицин	5FC	Ala-54	SOV-4	SOV-8	SDS	L-173
Gcv2	8,51	3,77	1,65	5,94	30,92	9,61	2,86	11,45	9,62	10,05	5,60	0,52	6,14
His3	6,48	-2,76	-10,87	-13,92	-28,61	3,41	-6,22	-17,02	-0,97	5,95	2,30	0,29	1,86
Trp3	10,38	10,46	4,04	5,17	1,10	20,94	3,85	-8,72	3,62	18,53	11,51	4,24	10,42
Aro2	-2,95	-6,38	-9,10	-6,04	-22,29	2,23	4,55	-25,76	0,77	0,17	-1,00	-2,59	-4,67
Lys1	-18,26	-18,48	-94,52	-59,36	-43,92	-15,23	-13,25	-20,31	-41,13	1,97	-0,90	-32,25	-18,37
Hom2	-2,29	-15,37	-30,51	-14,62	-18,50	11,68	-1,06	-12,94	-11,65	20,51	8,76	0,08	-8,83
Aro3	1,97	1,61	-11,03	1,81	9,58	22,18	7,19	7,33	7,62	31,82	4,82	1,62	1,79
Car1	15,73	18,82	-4,18	-24,38	-37,35	19,74	12,15	-31,46	-28,21	-22,77	-18,36	14,03	17,28
Sam4	-11,90	-26,00	-19,59	-33,34	-45,77	-31,06	-9,86	-36,04	-7,97	-7,15	-11,65	-27,42	-18,95
Sui2	0,93	-3,42	-2,64	-0,75	6,41	1,36	-1,00	-8,13	29,59	2,90	-1,23	0,44	-1,24
Gcv3	11,87	12,46	2,04	14,93	49,60	37,02	1,30	15,30	8,35	31,74	20,14	8,47	12,17
Rnr4	11,36	28,74	-22,87	42,10	-27,57	-6,09	8,09	-5,40	22,66	-60,57	-27,63	-9,54	20,05
Pdc1	25,50	31,04	14,26	-0,15	-213,25	-7,94	51,38	53,52	-58,01	-94,87	-81,51	20,41	28,27
Pyc2	3,04	-5,28	-5,21	-5,06	2,55	9,42	0,31	-5,79	-0,70	4,17	2,40	0,44	-1,12
Tps3	10,12	14,22	8,71	21,53	14,73	20,39	13,14	-4,69	11,43	18,24	8,95	16,00	12,17
Tsl1	12,68	26,88	71,14	113,11	112,97	98,60	63,87	105,69	19,02	60,13	28,95	39,61	19,78
Pgm2	4,78	17,97	78,34	124,35	128,96	107,99	51,50	96,36	10,48	49,83	29,71	10,06	11,38
Ald4	3,96	6,47	21,27	50,30	60,77	49,89	44,12	31,91	5,67	28,05	20,15	18,64	5,21
Hxk1	-6,09	-1,25	112,20	190,85	175,74	132,68	73,67	117,58	34,48	36,67	36,16	9,77	-3,67
Pda1	7,23	15,11	35,60	38,65	28,35	40,42	49,30	31,68	-0,35	26,24	16,28	27,38	11,17
Idp1	2,52	-1,46	16,85	21,46	35,85	50,32	25,18	15,63	-2,10	22,30	13,55	23,40	0,53
Tal1	17,44	19,90	40,19	28,37	-13,44	33,11	47,26	-9,26	4,44	-2,24	-0,03	27,32	18,67
Hxt3	73,26	91,83	-89,47	-72,10	-112,63	78,11	-39,31	-84,95	1,43	-84,29	-70,60	1,78	82,54
Pgk1	55,13	90,81	29,67	71,74	-20,07	85,69	73,83	3,34	-3,56	-16,79	-21,93	-22,07	72,97
Pmi40	15,09	6,86	-0,10	-11,99	-0,98	13,33	55,09	-18,95	0,65	-8,42	-5,69	15,36	10,98
Hog1	3,86	2,21	-0,44	0,51	0,76	2,19	17,20	5,01	1,45	-3,58	-2,12	5,82	3,03
Cwp1	-5,32	-20,92	-32,30	-25,80	-19,10	-0,54	3,27	15,46	12,24	-6,77	-21,16	-5,24	-13,12
Mdh2	2,08	-7,59	-37,62	-17,92	-11,54	1,23	0,74	3,10	-0,16	6,15	8,64	-4,48	-2,76
Erg3	94,47	118,02	57,67	28,64	-63,23	-37,69	0,96	-90,56	-1,94	-45,38	-28,08	1,85	106,24
Erg10	53,97	45,59	-21,30	3,06	-34,67	-9,36	21,08	-25,66	-4,14	-14,02	-3,66	10,07	49,78
Lsc1	1,36	5,81	11,87	28,35	14,09	28,28	25,52	18,03	2,58	22,57	13,90	17,46	3,58
Pdr5	101,76	206,24	-42,53	-28,68	-48,06	69,05	3,58	-39,01	99,84	-12,32	-8,47	85,35	154,00
Dur1	12,54	7,16	-10,00	1,57	4,90	8,87	-0,39	3,02	-2,10	3,82	0,33	-1,14	9,85
Uga1	16,38	27,18	24,99	64,33	36,32	52,66	37,38	25,18	5,18	36,43	23,51	31,78	21,78
Gpd2	-5,43	-8,84	-25,84	-6,53	-28,68	-0,14	5,65	4,21	-8,07	-1,16	1,76	-6,76	-7,13
Gpd1	77,39	100,50	61,19	87,94	0,62	50,04	52,70	56,28	79,29	25,91	9,91	83,94	88,94
Ahp1	12,95	30,88	157,46	161,87	-119,70	26,72	46,21	64,72	48,71	-22,21	-12,92	-5,80	21,91
Grx1	-3,77	-3,18	2,17	2,49	5,41	3,76	4,54	-1,34	-0,83	5,53	0,91	1,35	-3,48
Uth1	1,31	-3,61	-4,72	-2,72	4,16	-1,49	-2,24	-4,64	-1,57	3,33	-1,39	5,55	-1,15
Yhb1	78,07	76,44	22,69	159,17	-16,12	-22,35	-30,42	-46,28	-51,21	-37,75	-19,38	-77,17	77,26
Tsa1	32,57	38,97	30,27	55,58	-54,01	25,29	102,88	-22,12	38,58	20,53	19,28	37,56	35,77
Sod1	18,12	11,47	169,63	238,91	-17,49	37,43	-3,12	7,61	12,29	27,56	13,15	1,18	14,80
Trx2	11,89	-20,52	112,55	141,62	-31,34	-21,25	-6,62	-53,42	64,86	51,83	40,60	60,91	-4,31
Ssa2	45,77	46,11	-65,11	-74,51	-179,50	-159,68	-2,86	-148,16	-1,64	-60,34	-16,67	28,83	45,94
Ssa1	33,97	56,63	97,79	146,26	28,81	52,55	63,46	1,35	9,63	41,70	42,91	2,11	45,30
Ssa4	0,81	0,42	53,83	51,81	23,98	17,04	25,56	9,97	0,54	12,85	7,34	0,91	0,62
Ypk1	26,58	23,32	-1,62	-1,73	-2,10	1,37	14,99	-4,51	12,72	4,52	2,03	4,85	24,95
Sti1	-5,20	14,38	-12,34	14,34	-71,54	-46,37	37,78	-31,43	-18,63	-14,94	-0,72	-15,91	4,59
Bat2	6,67	6,89	15,21	23,14	0,30	7,04	-5,54	-1,85	2,37	5,88	-4,47	0,98	6,78

*Записанные значения в таблице представляют собой среднее значение Z-критерия, полученное в результате трех повторных экспериментов,

Продолжение таблицы П, 16

Белки	Флу коназол	Вори коназол	11326083	MP	Микоз идин	3В-Мус	Туника мицин	5FC	Ala-54	SOV-4	SOV-8	SDS	L-173
Tdh1	20,21	36,71	90,01	192,29	157,94	136,11	79,69	97,49	7,49	29,33	60,01	27,00	28,46
Hsp12	0,44	7,87	70,41	153,02	69,72	108,32	108,91	97,97	67,62	93,39	77,85	22,19	4,16
Hsp104	48,83	75,90	122,15	168,37	88,72	103,92	88,44	61,79	32,70	67,82	60,95	44,43	62,37
Hsp78	9,77	12,65	68,65	90,44	30,21	32,95	51,13	29,45	49,49	30,61	25,20	11,21	11,21
Nth1	11,65	20,52	15,63	24,69	15,17	15,91	23,78	25,34	9,22	19,50	9,99	19,00	16,08
Sse1	-8,22	-4,62	-42,43	-27,20	-20,20	4,24	-8,58	-5,55	-11,86	2,52	-1,78	-19,82	-6,42
Hsc82	33,55	37,43	-46,28	-36,87	-160,62	-104,90	5,06	-141,94	-2,50	-69,64	-17,58	15,01	35,49
Tps1	42,58	85,78	113,77	135,56	111,39	102,68	64,81	57,95	29,42	57,91	40,25	42,13	64,18
Nsr1	-70,51	-91,67	-161,95	-147,55	-190,17	-96,70	-70,04	-79,69	-51,19	-114,78	-48,14	-100,11	-81,09
Hsp42	8,47	15,00	16,79	31,38	28,98	26,48	33,69	27,17	3,94	28,11	18,50	13,78	11,74
Aha1	5,65	4,06	12,21	34,69	6,56	-4,11	48,52	10,58	-0,24	6,68	8,03	4,55	4,86
Hsp26	-1,15	-3,56	11,49	74,29	27,78	19,02	28,40	16,75	0,39	17,76	15,69	3,67	-2,36
Ydj1	18,98	-6,89	-4,54	-1,79	-87,58	-56,19	47,64	12,16	-53,42	-28,27	-9,58	3,73	6,05
Pre4	6,18	1,92	15,54	15,40	-8,67	14,47	21,95	16,90	11,21	3,85	1,98	29,25	4,05
Htb2	3,11	-1,11	-44,34	-71,40	-58,63	-10,67	-24,56	-91,96	-3,77	-36,90	-41,88	-4,65	1,00
Bmh1	49,31	90,03	38,13	58,95	17,10	79,04	72,59	44,36	31,33	31,85	15,94	64,86	69,67

*Записанные значения в таблице представляют собой среднее значение Z-критерия, полученное в результате трех повторных эксперимен

Таблица П 17 - Изменение кратности флуоресценции белков при 0,5× МИК тестируемых соединений

Sample ID:	11326083	MP	Туника мицин	Мико зидин	3В-Мус	Флуко назол	Ворик оназол	5FC	SOV-4	SOV-8	SDS	Ala-54	L-173
Gcv2	1,15	1,31	0,90	1,26	1,23	1,56	1,51	1,28	1,40	1,26	0,96	0,50	1,49
His7	0,65	0,73	0,86	0,91	1,10	1,25	1,14	0,44	1,01	1,74	0,85	0,67	1,01
Trp3	0,83	1,29	1,47	1,48	1,32	1,34	1,46	0,61	1,31	2,01	0,92	1,41	1,19
Aro2	0,82	0,73	1,03	0,98	1,14	1,20	1,04	0,34	0,94	1,02	0,78	0,54	0,99
Lys1	0,25	0,44	0,77	1,26	1,05	1,01	0,92	0,95	0,96	1,47	0,92	0,75	1,02
Hom2	0,54	0,60	1,07	1,29	1,30	1,38	0,87	0,57	1,26	2,68	0,80	0,44	1,11
Aro3	0,73	1,14	1,60	1,72	1,41	1,27	1,08	1,10	1,92	2,59	0,97	3,80	1,15
Car1	0,85	0,73	1,64	1,37	1,45	1,20	1,22	0,68	1,05	0,90	0,74	0,58	1,09
Sam4	0,53	0,29	0,70	0,56	0,76	1,04	0,70	0,48	0,87	0,68	0,89	1,24	0,90
Sui2	0,89	1,59	1,83	2,00	3,15	0,49	0,84	3,32	-0,82	-1,14	1,86	0,10	0,37
Gcv3	1,32	1,83	1,33	1,87	1,50	1,39	1,67	1,41	2,18	2,88	1,14	1,44	1,26
Rnr4	0,75	1,32	1,23	1,14	1,02	1,01	1,20	0,91	0,56	1,02	1,00	1,09	1,02
Pdc1	1,01	1,06	1,35	0,87	1,25	1,06	1,09	1,21	0,57	0,86	0,95	0,57	1,02
Pvc2	0,63	0,70	1,06	1,13	1,11	1,22	0,95	0,79	1,22	1,37	0,92	0,48	1,04
Tps3	1,20	1,89	1,83	1,42	1,35	1,40	1,63	0,92	1,61	1,51	0,95	0,99	1,09
Tsl1	4,65	6,79	4,21	5,98	3,08	1,33	2,09	4,25	4,14	4,37	1,21	6,98	1,01
Pgm2	4,01	6,99	3,20	7,67	3,33	1,25	1,61	3,15	3,31	4,59	1,09	4,80	0,82
Ald4	1,82	3,79	2,45	2,73	1,73	1,24	1,34	2,03	2,60	3,12	0,82	1,65	0,83
Hxk1	3,87	5,90	2,77	5,85	2,73	1,09	1,09	4,03	2,52	3,88	0,97	3,34	0,82
Pda1	2,15	2,79	2,67	2,25	1,76	1,14	1,42	2,16	2,42	3,15	0,77	2,27	0,81
Idp1	1,34	1,84	1,77	2,03	1,68	1,17	1,11	1,36	1,85	2,38	0,74	2,96	0,82
Tal1	1,26	1,34	1,83	1,45	1,22	1,09	1,18	0,91	1,19	1,15	0,87	0,74	0,89
Hxt3	0,48	0,58	0,87	2,04	1,78	1,77	1,81	0,62	0,74	0,75	0,87	1,23	1,26
Erg3	1,35	1,53	1,01	0,62	0,75	2,89	3,17	0,27	1,15	0,44	0,72	1,79	2,24
Pmi40	1,02	0,98	3,07	1,26	1,18	1,25	1,28	0,41	0,94	1,01	0,83	1,43	0,98
Hog1	0,94	1,21	1,79	1,05	0,93	1,16	1,26	1,33	1,20	1,14	0,76	0,65	0,92
Cwp1	0,45	0,36	1,82	0,89	1,08	0,90	0,73	1,27	2,20	0,25	1,15	0,72	0,68
Mdh2	0,45	0,70	1,13	1,13	0,93	1,27	0,95	0,85	1,06	1,19	0,66	1,59	0,69
Erg10	0,81	1,29	1,48	0,91	0,92	1,50	1,74	0,61	0,95	1,14	0,90	1,12	1,16
Lsc1	2,30	3,88	3,00	2,91	1,84	1,29	1,67	1,85	2,60	3,71	1,07	8,95	0,72
Pdr5	0,39	0,46	1,36	3,52	2,63	1,93	4,09	0,70	1,71	1,01	1,05	2,19	1,64
Dur1	3,53	-0,30	1,42	1,76	1,86	1,90	2,01	3,96	1,39	1,35	1,02	1,43	0,79
Uga1	2,72	4,72	3,55	4,29	2,40	1,64	2,37	2,99	3,80	4,66	1,14	-9,58	1,26
Gpd2	0,62	0,87	1,25	1,07	1,03	1,04	0,95	1,03	0,98	1,51	0,87	0,89	0,80
Gpd1	1,51	2,07	3,84	1,43	1,23	1,43	2,06	1,58	1,61	1,01	1,41	1,61	1,56
Ahp1	2,22	2,00	1,17	1,44	1,24	0,94	1,10	1,38	0,75	0,93	0,85	1,13	1,13
Grx1	0,75	3,57	4,22	1,11	1,09	1,15	1,30	1,29	2,59	2,48	1,04	29,16	0,63
Uth1	2,40	3,29	3,70	8,03	1,86	0,65	0,65	-0,29	1,64	-1,21	2,17	-8,22	-0,92
Yhb1	0,99	5,96	0,60	0,85	0,90	1,83	1,91	0,42	0,46	0,57	0,71	1,78	1,65
Tsa1	1,14	1,40	1,99	1,02	1,11	1,09	1,17	1,12	1,29	1,27	0,91	1,21	0,90
Sod1	3,15	4,72	0,95	1,15	1,11	1,08	1,10	1,44	1,28	1,25	0,98	1,84	0,93
Trx2	6,57	7,18	0,47	0,47	1,00	0,93	0,80	0,11	1,97	2,00	0,65	2,34	0,94
Ssa2	0,71	0,85	0,96	0,55	0,66	1,05	1,08	0,32	0,75	14,73	0,98	0,79	1,00
Ssa1	2,16	2,67	1,64	1,84	1,09	1,08	1,26	1,14	1,30	106,19	0,95	1,15	1,10
Ssa4	20,64	15,78	3,46	4,32	2,07	1,31	1,36	2,21	1,83	3,48	1,31	3,50	0,90
Ypk1	0,81	1,05	2,06	1,08	1,13	1,51	2,25	0,69	1,20	1,21	0,94	1,18	1,73
Sti1	1,04	1,28	1,35	0,77	0,79	0,99	1,08	0,81	0,86	1,02	0,83	0,78	1,01
Bat2	1,03	1,36	0,92	1,17	1,00	1,09	1,22	0,94	1,67	1,32	1,11	1,31	0,96
Tdh1	4,18	9,89	3,63	8,22	3,38	1,29	1,85	2,87	2,80	4,29	1,91	1,04	1,12
Hsp12	32,38	32,36	10,16	30,88	12,4	1,46	2,10	22,3	29,29	30,54	0,92	5,27	1,06
Hsp104	2,74	4,63	3,03	2,41	1,53	1,23	1,91	2,19	2,26	2,50	1,10	1,54	1,14
Hsp78	3,95	6,22	3,64	2,26	1,51	1,27	1,64	2,02	2,18	3,19	1,02	1,80	1,23
Nth1	1,85	3,57	2,91	2,22	1,39	1,55	2,18	2,33	2,51	2,64	1,21	1,27	1,21
Sse1	0,30	0,33	0,72	1,36	1,24	1,03	0,93	0,76	1,30	1,66	1,07	1,11	1,00
Hsc82	0,79	0,96	1,05	0,65	0,75	1,04	1,11	0,40	0,84	0,86	0,98	0,93	1,02
Tps1	3,28	3,89	2,92	2,75	1,89	1,43	2,36	2,90	2,74	2,75	1,14	3,41	1,61
Nsr1	0,31	0,31	0,60	0,65	0,79	0,88	0,65	2,77	0,44	0,36	0,80	0,58	0,78
Pgk1	1,14	1,34	1,54	1,40	1,38	1,09	1,23	1,05	0,92	0,98	1,03	0,92	1,08
Hsp42	4,96	8,16	6,09	4,53	2,03	1,30	3,04	4,87	2,94	5,66	1,38	2,20	1,63
Aha1	1,27	2,27	2,31	1,24	0,96	1,09	1,16	1,02	1,00	1,07	0,89	0,68	1,14
Hsp26	4,27	74,87	6,44	5,73	1,97	1,67	1,37	3,54	14,15	-13,58	1,10	-0,16	0,34
Ydj1	0,95	1,08	1,43	0,72	0,87	1,12	0,98	0,85	0,82	0,99	0,93	0,90	0,95
Pre4	1,06	1,31	1,47	1,26	1,05	1,07	1,08	1,16	1,18	0,99	0,94	0,98	0,95
Htb2	0,79	0,64	0,80	0,93	1,02	1,01	1,02	0,59	0,85	0,76	0,99	1,01	0,90
Bmh1	1,21	1,50	1,84	1,38	1,20	1,11	1,44	1,32	1,34	1,27	0,99	1,23	0,96

Таблица П 18 - Изменение кратности флуоресценции белков при 1× МИК тестируемых соединений

Sample ID:	113260 83	MP	Туника мицин	Мико зидин	ЗВ-Мус	Флу кона зол	Ворик оназол	5FC	SOV-4	SOV-8	SDS	Ala-54	L-173
Gcv2	0,90	1,24	0,99	2,28	1,84	1,38	1,01	1,39	2,22	1,24	1,64	-4,35	1,42
His7	0,62	0,61	0,70	0,60	1,13	1,17	0,85	0,57	1,30	0,57	0,98	1,12	0,96
Trp3	0,99	1,21	1,38	1,02	1,58	1,38	1,18	0,75	1,83	1,04	1,14	1,46	1,13
Aro2	0,69	0,80	1,08	0,51	1,03	0,98	0,87	0,46	1,26	0,46	1,45	0,98	0,87
Lys1	0,21	0,42	0,71	0,56	0,85	0,82	0,78	0,83	0,98	0,80	0,74	0,46	0,91
Hom2	0,46	0,46	0,90	0,62	1,23	1,11	0,62	0,70	1,96	1,28	0,70	0,54	0,84
Aro3	0,60	1,06	1,43	1,29	1,77	1,12	0,95	1,26	6,33	1,72	1,75	1,48	0,96
Car1	0,99	0,73	1,41	0,64	1,28	1,21	1,19	0,68	0,64	0,39	0,66	0,65	0,95
Sam4	0,55	0,30	0,54	0,31	0,51	0,88	0,53	0,48	1,04	-0,07	0,69	0,78	0,85
Sui2	1,03	1,67	0,88	1,10	0,76	0,54	1,92	2,28	2,42	13,75	-3,66	-10,19	1,40
Gcv3	1,02	1,93	1,20	3,51	2,50	1,39	1,56	1,51	2,75	2,06	4,99	1,56	1,36
Rnr4	0,99	1,71	1,07	0,82	0,97	1,06	1,18	0,98	0,41	0,48	3,75	1,22	1,01
Pdc1	1,05	1,00	1,30	0,32	0,96	1,10	1,10	1,20	0,21	0,34	0,63	0,57	0,98
Pyc2	0,61	0,71	0,97	1,11	1,34	1,17	0,77	0,79	1,36	0,70	0,89	1,08	0,97
Tps3	1,28	1,91	1,93	1,39	1,94	1,67	1,58	0,93	2,38	1,11	1,22	1,84	1,17
Tsl1	4,77	7,38	4,50	7,72	6,03	1,92	2,78	4,64	6,01	4,00	2,06	2,59	1,23
Pgm2	4,04	7,92	3,41	10,69	6,60	1,48	1,87	3,70	5,90	5,16	1,67	1,60	0,86
Ald4	1,72	3,47	2,67	4,70	3,29	1,16	1,16	2,34	3,11	2,43	1,87	1,17	0,70
Hxk1	3,46	5,88	2,89	8,31	5,37	1,02	1,11	3,73	3,31	3,53	0,72	1,60	0,98
Pda1	2,05	2,62	2,98	2,34	2,56	1,30	1,46	2,22	2,77	2,33	1,02	0,96	0,72
Idp1	1,36	1,74	1,83	2,12	2,44	1,11	0,97	1,53	1,91	1,74	1,61	0,94	0,82
Tal1	1,43	1,34	1,89	0,88	1,30	1,19	1,18	0,93	0,97	0,82	1,29	1,09	0,99
Hxt3	0,53	0,57	0,58	0,21	1,71	1,65	1,67	0,56	0,32	0,23	0,62	1,03	1,26
Erg3	1,89	1,47	0,95	0,20	0,53	2,47	2,91	0,24	0,27	-0,29	0,66	0,90	2,25
Pmi40	0,97	0,70	3,32	0,95	1,31	1,47	1,15	0,60	1,18	0,01	0,80	1,71	1,03
Hog1	0,91	1,08	1,81	0,95	1,06	1,24	1,03	1,17	0,96	-0,23	1,31	1,42	0,82
Cwp1	0,25	0,33	1,19	0,62	1,00	0,99	0,37	1,40	0,74	-0,19	1,35	1,48	0,84
Mdh2	0,39	0,58	1,01	0,79	1,07	1,11	0,83	1,66	1,66	1,11	0,83	0,90	0,67
Erg10	0,80	1,06	1,42	0,56	0,90	1,70	1,75	0,75	0,88	0,59	0,64	0,89	1,03
Lsc1	1,74	3,59	3,32	3,45	3,24	1,35	1,62	3,81	4,19	3,34	6,69	1,06	0,57
Pdr5	0,44	0,56	1,14	0,49	2,12	2,74	5,06	0,67	0,79	0,57	0,80	3,18	1,60
Dur1	3,06	-0,02	0,85	1,55	2,96	2,27	1,43	-26,74	3,50	-0,04	1,26	10,57	0,60
Uga1	2,54	6,01	4,10	4,41	4,55	2,51	2,88	3,81	7,79	5,15	2,83	-6,88	1,28
Gpd2	0,69	0,93	1,14	0,57	0,99	0,97	0,87	1,08	1,06	0,78	1,23	0,81	0,65
Gpd1	1,83	2,13	3,54	1,03	1,59	2,07	2,37	1,62	1,41	1,03	4,65	2,46	1,69
Ahp1	2,35	2,07	1,34	0,49	1,14	1,14	1,20	1,47	0,82	0,89	0,69	1,22	1,02
Grx1	1,00	2,97	4,01	1,49	1,77	1,02	-0,09	-0,20	6,04	-4,62	2,42	0,51	0,37
Uth1	11,49	2,62	3,06	4,55	1,22	0,04	1,16	-0,81	0,81	10,60	-89,59	0,93	-1,25
Yhb1	1,36	5,87	0,56	0,77	0,76	1,82	1,80	0,44	0,48	0,18	1,15	0,23	1,45
Tsa1	1,24	1,35	2,24	0,73	1,14	1,18	1,21	0,82	1,07	1,14	0,83	1,22	0,84
Sod1	3,26	4,92	0,94	0,88	1,29	1,12	1,07	1,00	1,26	1,03	0,79	1,08	0,81
Trx2	8,56	7,35	0,46	0,54	0,75	1,26	0,55	0,28	2,28	1,96	21,01	5,79	0,87
Ssa2	0,77	0,73	0,93	0,44	0,46	1,19	1,15	0,50	0,45	8,26	0,89	0,93	1,01
Ssa1	2,09	2,63	1,95	1,38	1,46	1,23	1,41	0,98	1,49	109,79	0,67	1,04	1,18
Ssa4	17,16	14,81	5,33	5,79	3,39	1,27	1,09	5,46	6,25	5,74	2,05	1,14	0,82
Ypk1	1,01	0,99	2,14	0,94	1,04	2,10	2,41	0,80	1,58	0,88	3,99	2,90	1,67
Sti1	0,94	1,12	1,47	0,61	0,75	0,98	1,09	0,83	0,80	0,77	0,72	0,88	0,99
Bat2	1,23	1,62	0,83	1,01	1,25	1,13	1,17	0,97	1,21	0,62	1,02	1,04	0,83
Tdh1	3,98	10,91	4,45	12,50	7,73	2,67	2,84	3,57	7,34	11,31	1,38	1,74	1,67
Hsp12	22,22	34,69	17,22	15,45	25,12	1,25	2,15	13,10	43,49	35,79	5,06	7,57	0,85
Hsp104	3,40	4,72	3,65	2,31	2,48	1,73	2,36	2,17	2,58	3,39	0,91	1,62	1,21
Hsp78	4,49	6,10	4,58	2,69	2,51	1,38	1,62	2,36	4,49	3,32	1,36	5,11	1,10
Nth1	2,15	3,89	4,06	2,03	2,15	2,09	2,57	2,70	4,77	3,38	3,13	2,31	1,24
Sse1	0,26	0,29	0,57	0,56	1,08	0,88	0,90	0,82	2,42	0,40	8,42	0,51	0,87
Hsc82	0,83	0,86	1,02	0,48	0,63	1,13	1,16	0,38	0,37	0,63	0,71	0,98	1,05
Tps1	3,60	4,54	3,22	3,29	3,16	2,00	3,30	2,16	3,42	2,86	2,22	2,54	1,82
Nsr1	0,32	0,25	0,39	0,20	0,54	0,67	0,56	0,58	0,21	0,17	2,47	0,47	0,69
Pgk1	1,16	1,36	1,63	0,92	1,48	1,23	1,40	1,04	0,73	0,68	0,67	0,98	1,07
Hsp42	3,77	8,43	7,59	5,73	4,03	2,54	4,00	5,84	8,62	6,45	6,07	2,05	1,61
Aha1	1,24	2,09	2,87	1,09	0,93	1,14	1,06	1,23	1,33	1,03	0,66	1,14	1,14
Hsp26	6,05	60,67	11,54	18,30	5,14	1,54	0,84	6,19	-93,96	-36,34	-50,28	2,35	-0,18
Ydj1	0,96	0,97	1,53	0,45	0,64	1,17	0,94	1,04	0,62	0,73	0,79	0,52	0,93
Pre4	1,19	1,20	1,51	0,88	1,14	1,06	1,03	1,62	1,13	0,78	1,92	1,20	0,92
Htb2	0,79	0,56	0,75	0,58	0,91	1,02	0,99	0,55	0,56	0,34	0,87	0,98	0,90
Bmh1	1,26	1,45	1,90	1,12	1,52	1,29	1,60	1,29	1,14	0,87	0,70	1,29	0,97

Таблица П 19 - Результаты анализа главных компонент (РСА)

	PC ₁	PC ₂	PC ₃	PC ₄	PC ₅	PC ₆	PC ₇	PC ₈	PC ₉	PC ₁₀	PC ₁₁	PC ₁₂	PC ₁₃	PC ₁₄	PC ₁₅	PC ₁₆	PC ₁₇	PC ₁₈	PC ₁₉	PC ₂₀	PC ₂₁	PC ₂₂	PC ₂₃	PC ₂₄
11326083 (МИК)	2,52	1,87	-4,27	-1,17	0,65	1,35	0,37	-0,41	-0,47	-1,43	1,90	0,29	-0,74	-0,79	-0,73	0,08	-0,12	1,00	0,26	0,09	0,35	-0,05	0,06	0,00
11326083 (МИК/2)	2,73	0,98	-4,17	-0,95	0,21	1,07	0,36	-0,70	-0,56	-1,44	2,30	-0,13	-0,93	-0,29	-0,98	0,11	0,30	-0,86	-0,32	-0,14	-0,33	0,08	-0,06	0,00
МР (МИК)	7,04	3,85	-0,93	-2,30	1,75	1,61	-0,72	1,59	-0,61	-0,38	-1,34	0,14	0,68	0,20	0,89	-0,40	-0,25	0,42	0,11	0,08	-0,53	0,07	-0,17	0,00
МР (МИК/2)	6,37	4,50	-0,75	-1,88	1,39	1,16	0,03	1,54	-0,35	-0,30	-1,29	-0,36	0,14	0,93	0,63	0,30	0,11	-0,57	-0,18	0,00	0,53	-0,09	0,19	0,00
Туникамицин (МИК)	0,71	7,58	3,09	-0,66	-2,39	-2,00	1,65	-1,64	0,83	1,01	0,80	-0,57	-0,12	0,12	-0,05	-0,28	0,18	-0,30	0,74	-0,14	-0,02	-0,12	-0,06	0,00
Туникамицин (МИК/2)	-1,25	6,37	3,07	-0,16	-2,06	-2,31	0,84	-1,04	0,87	0,45	0,72	-0,69	0,00	-0,05	0,30	0,08	-0,16	0,45	-0,79	0,20	-0,03	0,20	0,06	0,00
Микозидин (МИК)	5,09	-4,39	-0,87	0,30	0,67	-1,07	-3,29	-1,25	1,71	2,11	-0,49	-2,55	-0,44	0,53	-1,16	-0,12	0,19	0,15	-0,01	0,17	-0,03	-0,08	0,00	0,00
Микозидин (МИК/2)	0,49	-0,25	1,42	1,96	0,15	-0,88	-3,12	0,95	0,88	0,26	0,68	2,15	-0,44	0,08	0,68	-0,44	1,33	0,22	-0,08	-0,24	0,05	0,02	0,01	0,00
ЗВ-Мус (МИК)	0,94	-0,24	2,18	1,78	0,92	-0,66	-3,44	0,41	1,01	0,19	0,69	0,73	-0,30	-0,30	0,11	0,51	-1,24	-0,19	0,18	-0,40	0,07	0,27	0,03	0,00
ЗВ-Мус (МИК/2)	-3,00	-0,65	-0,43	2,16	-0,74	-0,24	-1,70	0,75	0,23	-0,54	1,48	0,85	-0,54	0,61	0,90	-0,14	-0,54	-0,29	0,01	0,67	-0,06	-0,36	-0,04	0,00
Флуконазол (МИК)	-4,73	1,52	-0,49	1,53	-0,11	1,15	0,01	0,64	-0,99	0,65	-0,42	-0,70	-0,16	0,39	-0,08	0,53	-0,16	0,33	-0,28	-0,60	-0,08	-0,45	-0,14	0,00
Флуконазол (МИК/2)	-5,53	0,05	-0,48	2,06	-0,23	0,98	0,02	1,14	-1,38	-0,41	-0,05	-1,10	-0,45	1,20	0,24	0,99	0,48	0,17	0,36	0,15	-0,25	0,24	0,22	0,00
Вориконазол (МИК)	-3,31	2,42	-1,91	1,05	0,21	1,57	0,09	0,92	-0,52	2,86	-0,85	1,11	0,71	-1,08	-1,13	-0,66	-0,20	-0,15	-0,03	0,06	-0,16	-0,05	0,32	0,00
Вориконазол (МИК/2)	-4,48	1,93	-0,68	1,37	0,40	1,51	-0,19	1,18	-0,85	1,49	-0,77	0,12	0,28	-0,30	-0,71	0,13	0,20	-0,19	0,02	0,27	0,34	0,24	-0,42	0,00
5FC (МИК)	1,26	-2,05	-1,58	-0,67	-3,48	-4,03	0,48	0,36	-1,65	-1,13	-2,82	0,94	-2,18	-0,33	-0,44	0,00	-0,15	-0,01	0,01	0,01	-0,02	0,00	-0,01	0,00
5FC (МИК/2)	0,75	-2,17	-2,90	-0,63	-2,87	-2,45	-0,43	-0,57	-0,07	-1,18	0,14	0,90	3,56	0,75	-0,69	0,36	0,02	0,02	0,02	-0,03	0,02	-0,02	-0,01	0,00
SOV-4 (МИК)	3,22	-3,66	6,94	0,71	1,67	0,74	0,66	-2,82	-4,40	0,39	0,65	0,48	0,22	0,48	-0,29	-0,26	-0,06	0,03	-0,05	0,04	0,04	-0,01	0,01	0,00
SOV-4 (МИК/2)	-0,97	-0,97	1,46	1,03	0,83	-0,57	-1,18	-0,75	-0,55	-1,66	-0,67	-1,57	0,98	-2,72	1,01	0,32	0,33	-0,19	0,05	0,08	0,00	-0,09	0,03	0,00
SOV-8 (МИК)	5,57	-5,66	-1,45	2,00	-3,37	2,32	3,46	-0,31	1,28	2,47	0,37	0,51	-0,14	-0,47	1,21	0,51	0,00	0,02	-0,01	-0,02	0,00	0,04	-0,02	0,00
SOV-8 (МИК/2)	0,78	-1,93	5,88	3,10	-0,60	2,31	2,07	2,50	2,60	-2,88	-0,61	-0,23	0,09	0,12	-1,24	-0,37	-0,02	0,03	-0,01	0,01	-0,01	-0,03	0,01	0,00
SDS (МИК)	-4,73	-4,15	3,05	-10,68	-1,01	0,95	-0,40	1,56	0,52	0,54	0,60	-0,01	-0,17	-0,15	0,09	0,04	0,02	-0,02	0,01	-0,02	0,01	-0,01	0,01	0,00
SDS (МИК/2)	-4,18	-2,63	-3,79	1,07	-1,25	0,42	0,37	-0,42	-0,60	-0,85	0,20	-1,60	0,15	0,57	1,09	-1,47	-0,26	-0,04	0,00	-0,26	0,17	0,17	0,02	0,00
Ala-54 (МИК)	-4,20	0,22	-1,25	-1,22	2,81	1,81	0,47	-5,46	2,40	-0,93	-1,84	1,22	-0,29	0,44	0,20	0,16	0,01	-0,03	0,00	0,04	-0,03	0,01	0,00	0,00
Ala-54 (МИК/2)	-1,10	-2,53	-1,16	0,21	6,46	-4,74	3,59	1,82	0,69	0,70	0,60	0,08	0,11	0,06	0,14	0,01	-0,02	0,01	0,02	-0,02	-0,02	-0,01	-0,02	0,00
собственное значение	14,3	11,3	8,4	7,2	4,6	3,8	3,1	2,9	2,1	1,9	1,4	1,1	1,0	0,6	0,6	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
% дисперсии	22,1	17,3	12,9	11,1	7,0	5,8	4,8	4,5	3,3	2,9	2,1	1,7	1,5	1,0	0,9	0,4	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
Накопленный (%)	22,1	39,4	52,3	63,4	70,4	76,2	81,0	85,5	88,7	91,7	93,8	95,5	97,0	97,9	98,8	99,2	99,5	99,7	99,8	99,9	99,9	100,0	100,0	100,0

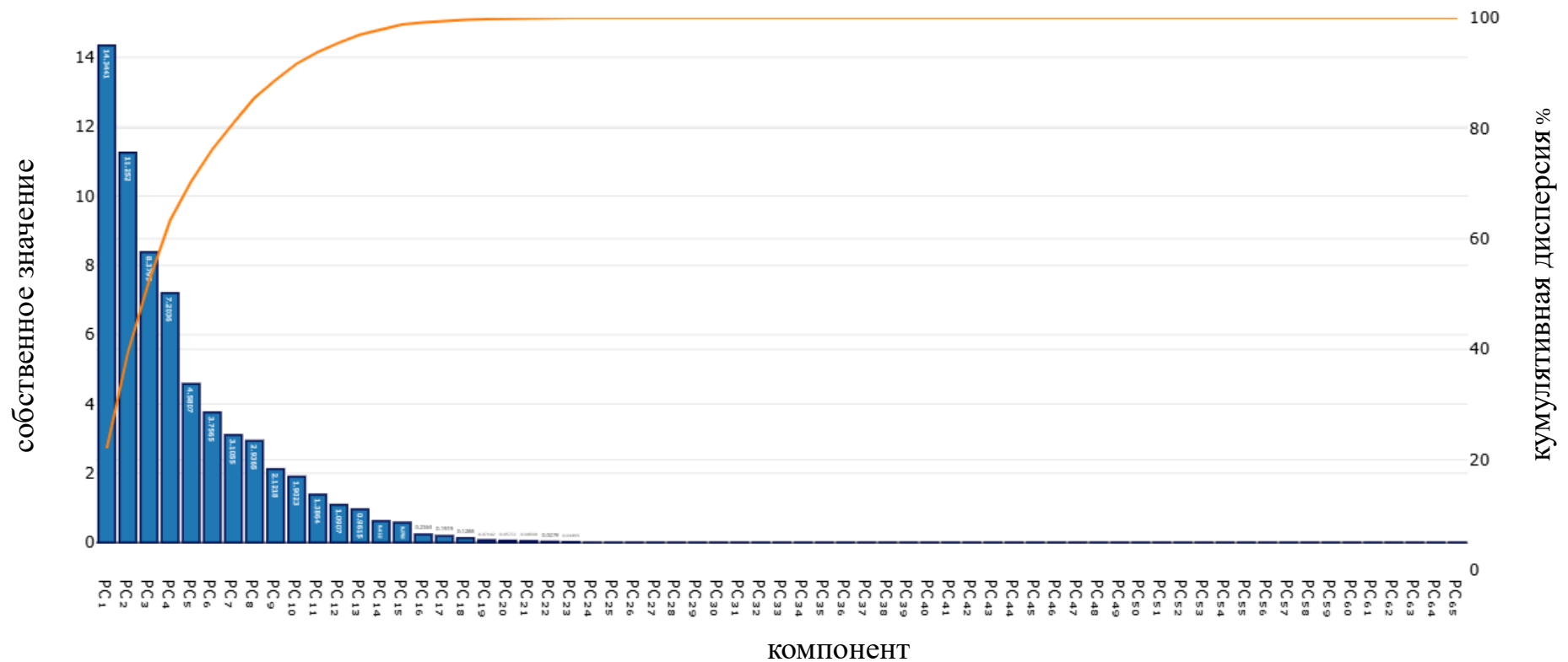


Рисунок П 1 - График собственных значений метода главных компонент. Исходная дисперсия представлена вдоль диагонали ковариационной матрицы, а дисперсии главных компонент обозначены собственными значениями. Общая дисперсия по всем измерениям составляет 65. На исходные 3 измерения приходится 4,62 % дисперсии, в то время как первые 3 главных компонента объясняют 52,27 % дисперсии (33,98 % от первого компонента).