

УДК 577.151.45 + 571.27

СРАВНЕНИЕ БАКТЕРИОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 ЧЕЛОВЕКА И ЯИЧНОГО КУРИНОГО ЛИЗОЦИМА НА КЛЕТКАХ

Lactobacillus plantarum И *Escherichia coli*

П.А. Левашов, Д.А. Матолыгина, Е.Э. Осипова, С.С. Савин, Г.С. Захарова,
Д.А. Гасанова, Н.Г. Белогурова, Е.Д. Овчинникова, С.А. Смирнов, В.И. Тишков,
А.В. Левашов

(кафедра химической энзимологии химического факультета МГУ
имени М.В. Ломоносова; e-mail: levashov@yahoo.com)

Продолжено исследование недавно обнаруженной бактериолитической активности интерлейкина-2. Ранее было выявлено, что интерлейкин-2 (IL-2) обладает более узкой субстратной специфичностью в сравнении с куриным яичным лизоцимом. IL-2 разрушал клеточную стенку *Escherichia coli*, но не лизировал такие субстраты лизоцима, как клеточные стенки *Micrococcus luteus* и *Bacillus subtilis*. В данной работе впервые показано, что IL-2, как и куриный яичный лизоцим, способен лизировать клетки *Lactobacillus plantarum*. Действие IL-2 и яичного куриного лизоцима на *Lactobacillus plantarum* сравнивается в работе с их действием на *Escherichia coli*. Исследована зависимость скорости лизиса от концентрации бактериолитических факторов и ионной силы, а также изучены pH-профили активности.

Ключевые слова: интерлейкин-2, яичный куриный лизоцим, *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli*, бактериолитическая активность.

Обнаружено [1, 2], что интерлейкин-2 обладает бактериолитической активностью, подобно яичному куриному лизоциму, однако, в отличие от лизоцима, демонстрирует более строгую субстратную специфичность, лизируя грамотрицательные палочки *Escherichia coli*, но не действуя на грамположительные кокки *Micrococcus luteus* и спорообразующие грамположительные бактерии *Bacillus subtilis*.

Поиск новых субстратов-бактерий, на которых проявляет активность интерлейкин-2, является фундаментальной научной задачей, так как механизм бактериолитического действия интерлейкина-2 до сих пор не изучен. С точки зрения медицинской прикладной науки особенно важно знать характер действия интерлейкина-2 на те бактерии, которые взаимодействуют с человеческим организмом, так как интерлейкин-2 выступает в качестве важного фактора в различных воспалительных процессах, сепсисе, онкологии. Кроме того, IL-2 является и диагностическим маркером, и лекарственным препаратом [3–7].

Данная работа посвящена обнаружению и исследованию бактериолитической активности ин-

терлейкина-2 человека на грам-положительных молочнокислых бактериях *Lactobacillus plantarum*, которые являются важным компонентом симбиотической микрофлоры человека [8–10].

Материалы и методы

В работе использованы следующие материалы: ронколейкин (раствор очищенного интерлейкина-2 для внутривенного и подкожного введения (0,5 мг в 1 мл; «Биотех», Россия); MES, Tris («ч.д.а», «ICN Biomedicals», США); лиофилизированный куриный яичный лизоцим (95% чистоты, «Sigma Aldrich», США); лимонная кислота, CuSO₄, NaCl, Na₂CO₃, NaOH («ч.д.а», «Merck», Германия); CH₃COOH («ч.д.а», «Реахим», Россия); HCl («Germed», Германия); 10%-й водный раствор додецилсульфата натрия («BioRad», США).

Клетки *E. coli* JM109 любезно предоставлены Дж. Мессингом (Waksman Institute, New Jersey, США). Клетки *E. coli* растили 1 сут на 1%-й твердой агаризованной среде LB при температуре 37°C по стандартной методике [11]. Использовали препарат лиофилизированных бактерий *L. plantarum* («Микроген», Россия), из которого перед началом работы готовили суспензию (10 мл воды на одну

*Институт биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (РФ); Институт экспериментальной кардиологии, Российский кардиологический научно-производственный комплекс Министерства здравоохранения РФ.

ампулу). Перед началом измерений препараты клеток *E. coli* и *L. plantarum* центрифугировали при 3500 об/мин в течение 4 мин на центрифуге «Minispin» («Eppendorf», Германия), затем ресуспендировали в буферном растворе, используемом для измерения активности. Результаты измерений скорости лизиса клеток лиофилизированного препарата *L. plantarum* совпадают с таковыми для свежесывращенных клеток [12]. Раствор яичного куриного лизоцима готовили непосредственно перед экспериментом, используя ту же буферную смесь, что и для измерения активности. В качестве стандартного раствора интерлейкина-2 использовали готовый препарат без дополнительной обработки, ампулу вскрывали непосредственно перед экспериментом. Так как в исходном растворе интерлейкина-2 присутствует додецилсульфат натрия (0,5%), то в работе также приведены данные по влиянию разных концентраций данного компонента на фоновый лизис клеток и на лизис в присутствии интерлейкина-2. Для измерения светопоглощения растворов использовали двухлучевой спектрофотометр «UV-1601PC» («Shimadzu», Япония). Измерения проводили в кюветах с длиной оптического пути 1 см и объемом 0,5 мл. Концентрацию белка определяли микробиуретовым методом [13] с использованием модифицированного реагента Бенедикта [14].

Определение бактериолитической активности

Бактериолитическую активность белков определяли турбидиметрическим методом [12, 15] на длине волны 650 нм при температуре 37°C. В качестве начальной скорости лизиса клеток использовали изменение поглощения A_{650} в интервале времени от 5 до 20–30 с от начала лизиса. В отсутствие бактериолитических факторов фоновый самопроизвольный лизис клеток в условиях эксперимента не наблюдался. При определении активности использовали суспензию клеток с начальным поглощением $A_{650} = 0,4$. Измерение активности проводили в буферном растворе 10 mM MES-Tris-CH₃COOH при разных значениях pH. В качестве показателя активности в работе приведены значения начального изменения поглощения – dA/dt (с⁻¹), которые в данных условиях связаны постоянными множителями с $-dKOE/dt$ и с изменением степени лизиса $d\Theta/dt$ [12, 15] ($\Theta = 0$, если все клетки целы, и $\Theta = 1$ в случае 100%-го разрушения клеток препарата). Множитель (α) для пересчета $-dA/dt$ в $d\Theta/dt$ зависит от клеток-субстратов. Для разных клеток-субстратов одно и то же изменение

поглощения соответствует разному изменению степени лизиса. Скорость лизиса и удельная скорость лизиса (СЛ) могут быть рассчитаны по следующим формулам:

$$d\Theta/dt = (-dA/dt) \cdot \alpha,$$

$$\text{СЛ} = (1/[E]) \cdot d\Theta/dt = ((-dA/dt) \cdot \alpha)/[E].$$

Согласно данным предыдущих работ, множитель α (для пересчета скорости начального падения величины оптического поглощения в скорость изменения степени лизиса) равен 8,9 и 3,3 для *L. plantarum* и *E. coli* соответственно [12, 15].

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены зависимости скорости лизиса от концентрации бактериолитического фактора. Сразу отметим тот факт, что в сравнении с литературными данными [1] активность используемого в данной работе интерлейкина-2 оказалась ниже в 7–8 раз в аналогичных условиях измерения. Этот феномен связан, вероятно, с отсутствием контроля за уровнем прямой бактериолитической активности в коммерческом препарате, который может отличаться по этому свойству в зависимости от партии. В целом все зависимости активности от концентрации бактериолитического фактора имеют сходный характер. Скорость лизиса клеток пропорциональна концентрации бактериолитического фактора в области малых концентраций последнего, когда скорость-лимитирующей стадией лизиса является ферментативный процесс. В области больших концентраций фермента зависимость имеет более сложный характер, стремясь к горизонтальной асимптоте, когда скорость лизиса перестает зависеть от концентрации фермента. При большой концентрации фермента происходит множественное одновременное повреждение клеточной стенки, и скорость осмотического разрыва клетки оказывается медленней ферментативных процессов, которые перестают быть скоростью-лимитирующими [1, 12]. Приближение к горизонтальной асимптоте явно наблюдается в экспериментах с лизоцимом как для *L. plantarum*, так и для *E. coli*. В экспериментах с интерлейкином-2, как сказано выше, скорость лизиса клеток сравнительно невысока, поэтому в рабочем диапазоне концентраций наблюдается только линейный диапазон зависимости. В дальнейших экспериментах для удобства сравнения мы выбрали такие концентрации бактериолитических факторов, при которых наблюдаемые скорости имеют один порядок.

На рис. 2 представлены pH-зависимости скорости лизиса клеток *L. plantarum* и *E. coli* под дей-

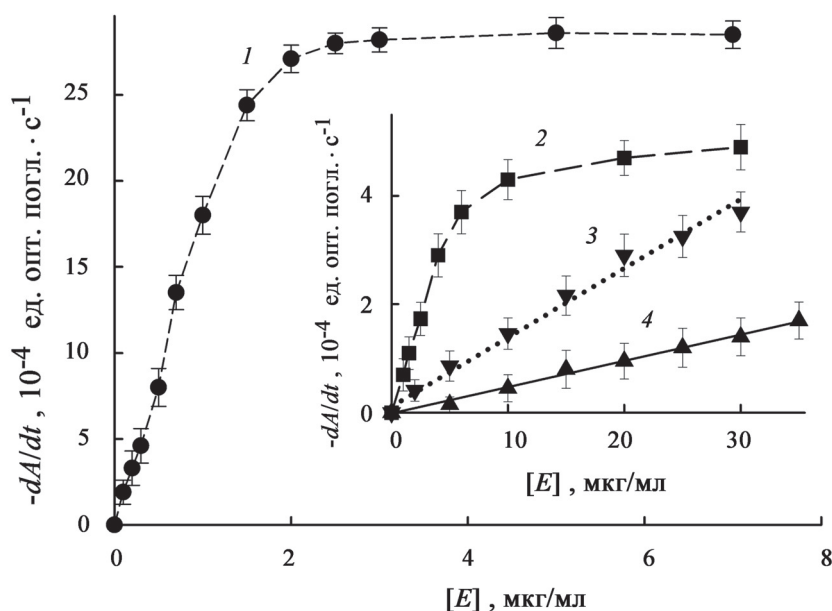


Рис. 1. Зависимости скорости лизиса клеток от концентрации бактериолитических факторов: 1 – лизоцим (*E. coli*, pH 8,5); 2 – лизоцим (*L. plantarum*, pH 7,0); 3 – интерлейкин-2 (*E. coli*, pH 8,5); 4 – интерлейкин-2 (*L. plantarum*, pH 7,0)

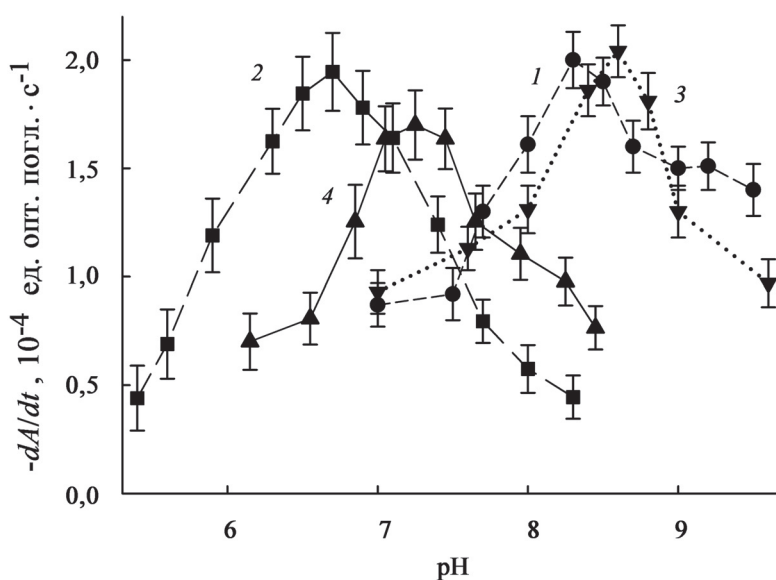


Рис. 2. Зависимость скорости лизиса от pH: 1 – лизоцим (0,1 мкг/мл, *E. coli*); 2 – лизоцим (2,5 мкг/мл, *L. plantarum*); 3 – интерлейкин-2 (15 мкг/мл, *E. coli*); 4 – интерлейкин-2 (30 мкг/мл, *L. plantarum*)

ствием ИЛ-2 и яичного куриного лизоцима. Как видим, картина кардинально меняется в зависимости от используемых клеток-субстратов. И для яичного куриного лизоцима, и для интерлейкина-2 оптимумы активности на *L. plantarum* лежат в нейтральной области. Для *E. coli* pH-оптимумы активности для обоих бактериолитических факторов смещены в щелочную область. Согласно данным, полученным в работе [1], оптимум активности

яичного куриного лизоцима и интерлейкина-2 человека на клетках *E. coli* также смещен в щелочную область в аналогичных условиях. Для интерлейкина-2, выделенного из плазмы крови барана [2], тоже наблюдается оптимум pH-активности в щелочной области в случае использования в качестве субстрата *E. coli*. Для сложного полимерного субстрата pH-профиль активности фермента может существенно отличаться от теоретического,

основанного на знании рК ионогенных групп активного центра [16, 17]. Эффективное значение рН для микроокружения участвующих в катализе ионогенных групп в области заряженной поверхности бактерии может отличаться от значения рН в объеме раствора. Отдельной проблемой описания ферментативной кинетики для полимерных субстратов является сложность учета вклада разных типов сорбции фермента [18]. Для лизоцима известно явление различного характера сорбции фермента на клетках *E. coli* и *L. plantarum* в разных условиях [12, 19], что может вносить искажения в характер рН-зависимостей активности. Таким образом, для сложного полимерного субстрата на характер зависимости активности от рН влияют многие факторы. Можно утверждать, что имеет место сходный характер смещения рН-оптимума активности для интерлейкина-2 и лизоцима в зависимости от используемого субстрата бактериальных клеток. Выяснение деталей взаимодействия антибактериального белка с клеткой при разных значениях рН выходит за рамки данной работы и может быть предметом будущих исследований.

В табл. 1 представлен пересчет наблюдаемых значений активности ($-dA/dt$) в оптимумах рН-

зависимостей активности в истинную скорость изменения степени лизиса (СЛ). Величина $100\% \times \text{СЛ}$ соответствует процентному содержанию в системе клеток, разрушенных в 1 с, в расчете на концентрацию фермента 1 г/л (мг/мл). Как видим из соотношения удельных скоростей лизиса, лизоцим почти в десять раз эффективней лизирует клетки *E. coli*, а интерлейкин-2 приблизительно одинаково эффективен в отношении *E. coli* и *L. plantarum*.

В табл. 2 представлены данные по скорости лизиса *L. plantarum* и *E. coli* в присутствии интерлейкина-2 при разных значениях ионной силы. Для обоих субстратов наблюдается уменьшение скорости лизиса при увеличении ионной силы до значения 0,03 М. Падение скорости лизиса при увеличении ионной силы может быть связано с уменьшением скорости осмотического разрыва клетки [12, 15]. Однако в сравнении с яичным куриным лизоцимом для интерлейкина-2 данный эффект от повышения ионной силы более явно выражен. По литературным данным, действие яичного куриного лизоцима на *E. coli* [15] и *L. plantarum* [12] также уменьшается с ростом ионной силы, но при концентрации NaCl 0,03 М скорость лизиса еще не снижается и лишь при концентрациях NaCl 0,06

Таблица 1

Расчет истинных значений скорости лизиса клеток на основе наблюдаемой скорости падения величины поглощения

Показатель	Интерлейкин-2		Лизоцим	
	<i>E. coli</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. plantarum</i>
$-dA/dt, 10^{-4} \text{ с}^{-1}$	2,1	1,7	2,0	1,95
[E], г/л	0,015	0,03	0,0001	0,0025
$1/[E] \cdot (-dA/dt), 10^{-3} \text{ л} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$	14	5,7	2000	78
$\text{СЛ} = (1/[E]) \cdot (d\Theta/dt)$ $= (-dA/dt) \alpha/[E], 10^{-2} \text{ л} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ или $100\% \cdot \text{СЛ}, \text{ л} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$	4,62	5,07	660	69,42
$\text{СЛ}(E. coli)/\text{СЛ}(L. plantarum)$	0,9		9,5	

Таблица 2

Влияние концентрации соли на бактериолитическую активность интерлейкина-2 (рН 7,6)

[NaCl], М	0	0,03
	$-dA/dt, 10^{-4} \text{ с}^{-1}$	
15 мкг/мл интерлейкина-2 на <i>E. coli</i>	1,2±0,2	0,5±0,1
30 мкг/мл интерлейкина-2 на <i>L. plantarum</i>	1,4±0,2	0,4±0,1

М и выше она начинает заметно снижаться. В отличие от лизоцима интерлейкин-2 из плазмы крови барана [2] при действии на *E. coli* также демонстрировал резкое уменьшение скорости лизиса клеток при концентрации NaCl 0,03 М.

В табл. 3 представлены данные по влиянию на скорость лизиса поверхностно-активного вещества додецилсульфата натрия (ДСН), который может входить в состав медицинских препаратов, в том числе на основе интерлейкина-2. Как видим, на действие интерлейкина-2 и на фоновый лизис клеток данный ПАВ практически не влияет до концентраций как минимум 0,5 мг/мл. Согласно литературным данным, ДСН оказывает действие на активность яичного куриного лизоцима [20]. Можно предположить, что данный ПАВ может связываться в активном центре яичного куриного лизоцима, изменяя его свойства, но не оказывает подобного действия на интерлейкин-2. В нашей работе максимальная концентрация интерлейкина-2 в экспериментах составляла 0,03 мг/мл, что соответствует внесению ПАВ до концентрации 0,3 мг/мл. Можно утверждать, что данный ПАВ в условиях экспериментов данной работы не оказывает заметного

действия на активность ферментов и не вызывает лизиса клеток сам по себе.

Таким образом, в работе показано, что интерлейкин-2 обладает бактериолитической активностью в отношении не только *E. coli*, но и *L. plantarum*. При этом яичный куриный лизоцим лизирует клетки *E. coli* на порядок эффективней, чем клетки *L. plantarum*. Интерлейкин-2 оказался одинаково активен и в отношении *E. coli*, и в отношении *L. plantarum*. Положение pH-оптимума активности как для интерлейкина-2, так и для лизоцима зависит в первую очередь от клетки- субстрата, находясь в области нейтральных pH (6,7–7,3) для *L. plantarum* и в области щелочных значений pH (8,3–8,7) для *E. coli*. Действие на бактериальные клетки интерлейкина-2 по сравнению с лизоцимом более чувствительно к повышению ионной силы. Наблюдаемое значение активности интерлейкина-2 падает более чем в два раза при концентрации NaCl 0,03 М, а аналогичное падение активности для яичного куриного лизоцима происходит лишь при концентрации NaCl 0,06–0,08 М [2, 15]. На действие интерлейкина-2 не влияет присутствие ДСН (вплоть до концентраций последнего 0,5 мг/мл).

Таблица 3

Влияние додецилсульфата натрия на фоновый лизис клеток и на активность интерлейкина-2

ДСН, мг/мл	0,1	0,15	0,2	0,3	0,5
Фоновый лизис при pH 7,0 <i>L. plantarum</i> , 10^{-5} с^{-1}	0	0	0	0	0
10 мкг/мл интерлейкина-2 при pH 7,0 на <i>L. plantarum</i> , 10^{-5} с^{-1}	5,5±1,4	5,7±2,0	5,3±1,7	5,9±2,7	6,2±2,6
Фоновый лизис при pH 8,5 <i>E. coli</i> , 10^{-5} с^{-1}	0	0,5±0,3	0,7±0,3	1,0±0,3	1,5±0,5
10 мкг/мл интерлейкина-2 при pH 8,5 на <i>E. coli</i> , 10^{-5} с^{-1}	12,2±1,8	11,5±1,6	12,4±1,9	13,1±2,3	14,7±2,5

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-14-00012 «Исследование бактериолитической активности интерлейкина-2»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Левашов П.А., Седов С.А., Белогурова Н.Г., Шиповсков С.В., Левашов А.В. // Биохимия. 2012. Vol. 77. N 11. С. 1567.
2. Седов С.А., Белогурова Н.Г., Шиповсков С.В., Семёнова М.В., Гитинов М.М., Левашов А.В., Левашов П.А. // Биоорг. химия. 2012. Т. 38. № 3. С. 315.
3. Baaten G., Voogd A.C., Wagstaff J. // Eur. J. Cancer. 2004. Vol. 40. N 8. P. 1127.
4. Aurelius J., Martner A., Brune M., Palmqvist L., Hansson M., Hellstrand K., Thoren F.B. // Haematologica. 2012. Vol. 97. N 12. P. 1904.
5. Wagner S.C., Markosian B., Ajili N., Dolan B.R., Kim A.J., Alexandrescu D.T., Dasanu C.A., Minev B., Koropatnick J., Marincola F.M., Riordan N.H. // J. Transl. Med. 2014. Vol. 12. P. 127.
6. Sari T.T., Gatot D., Akib A.A., Bardosono S., Hadinegoro S.R., Harahap A.R., Idjradinata P.S. // Acta Med. Indones. 2014. Vol. 46. N 3. P. 217.
7. Witkowska A., Zywiec J., Strozik A., Gorczynska-Kosiorz S., Trautsohl W., Strzalka-Mrozik B., Kimsa M., Owczarek A., Stepień B., Mazurek U., Grzeszczak W., Gumprecht J. // Ann. Agric. Environ. Med. 2015. Vol. 22. N 2. P. 320.
8. Reid G., Burton J. // Microbes and Infections. 2002. Vol. 4. P. 319.

9. Merk K., Borelli C., Kortling H.C. // Intern. J. Med. Microbiol. 2005. Vol. 295. P. 9.
10. Vries M.C. de, Vaughan E.E., Kleerebezem M., Vos W.M. de // Intern. Dairy J. 2006. Vol. 16. P. 1018.
11. Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. // Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor. N.Y., 1982.
12. Матолыгина Д.А., Осипова Е.Э., Смирнов С.А., Белогурова Н.Г., Еремеев Н.Л., Тишков В.И., Левашов А.В., Левашов П.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2015. Т. 56. № 6. С. 365.
13. Levashov P.A., Sutherland D.S., Besenbacher F., Shipovskov S. // Anal. Biochem. 2009. Vol. 395. P. 111.
14. Левашов П.А., Овчинникова Е.Д., Афанасьева М.И., Фрид Д.А., Азьмуко А.А., Беспалова Ж.Д., Адамова И.Ю., Афанасьева О.И., Покровский С.Н. // Биоорг. химия. 2012. Т. 38. № 1. С. 58.
15. Levashov P.A., Sedov S.A., Shipovskov S., Belogurova N.G., Levashov A.V. // Anal. Chem. 2010. Vol. 82. P. 2161.
16. Рабинович М.Л., Клесов А.А., Березин И.В. // Биоорг. химия. 1976. Т. 2. № 6. С. 795.
17. Смотров О.И., Борзенков В.М., Суровцев В.И. // Биоорг. химия. 2011. Т. 37. № 5. С. 631.
18. Рабинович М.Л., Клесов А.А., Березин И.В. // Биоорг. химия. 1976. Т. 2. № 5. С. 689.
19. Sedov S.A., Belogurova N.G., Shipovskov S., Levashov A.V., Levashov P.A. // Colloids Surf. B. 2011. Vol. 88. P. 131.
20. Иванов Р.А., Соболева О.А., Смирнов С.А., Левашов П.А. // Биоорг. химия. 2015. Т. 41. № 3. С. 292.

Поступила в редакцию 01.08.15

COMPARISON OF BACTERIOLYTIC ACTIVITY OF HUMAN INTERLEUKIN-2 AND CHICKEN EGG LYSOZYME ON THE CELLS OF *Lactobacillus plantarum* AND *Escherichia coli*

P.A. Levashov, D.A. Matolygina, H.E. Osipova, S.S. Savin, G.S. Zaharova,
D.A. Gasanova, N.G. Belogurova, E.D. Ovchinnikova, S.A. Smirnov, V.I. Tishkov,
A.V. Levashov

(Department of Chemical Enzymology, Faculty of Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University)

This paper continues the study of the recently discovered bacteriolytic activity of interleukin-2. It has earlier been revealed that interleukin-2 (IL-2) has a narrower substrate specificity in comparison with chicken egg lysozyme. IL-2 destroys *Escherichia coli*, but can not destroy *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*. For the first time in the present study it is demonstrated that IL-2 is capable to destroy *Lactobacillus plantarum*. The action of IL-2 and that of chicken egg lysozyme are compared in their effect on *Lactobacillus plantarum* and *Escherichia coli*. There have been investigated the dependences of the rate of lysis on the concentration of bacteriolytic factors, pH and ionic strength.

Key words: interleukin-2, chicken egg lysozyme, *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli*, bacteriolytic activity.

Сведения об авторах: Левашов Павел Андреевич – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, ст. науч. сотр. Института экспериментальной кардиологии Кардиологического научного центра Министерства здравоохранения Российской Федерации, канд. хим. наук (levashov@yahoo.com); Матолыгина Дарья Андреевна – студентка химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (dashunechka.m@yandex.ru); Осипова Елена Эдуардовна – студентка химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (polza_1993@mail.ru); Савин Святослав Сергеевич – науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. биол. наук (sslavas86@gmail.com); Захарова Галина Сергеевна – мл. науч. сотр. Института биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (galina.s.zakharova@gmail.com); Гасанова Дария Алановна – студентка химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (sova-sipuha@hotmail.com); Белогурова Наталья Георгиевна – доцент кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (nbelog@mail.ru); Овчинникова Екатерина Дмитриевна – мл. науч. сотр. Института экспериментальной кардиологии Кардиологического научного центра Министерства здравоохранения РФ (k.ovchinnikova@gmail.com); Смирнов Сергей Александрович – науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (sergik-2001@yandex.ru); Тишков Владимир Иванович – профессор кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, зав. лабораторией молекулярной инженерии Института биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, докт. хим. наук (vitishkov@gmail.com); Левашов Андрей Вадимович – профессор кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук, профессор (a_levashov@bk.ru).