

УДК 577.322.5

ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ДОКИНГЕ 3D-МОДЕЛИ БЫЧЬЕЙ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ГИАЛУРОНИДАЗЫ С ТРИМЕРОМ ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТА И ТЕТРАМЕРОМ ГЕПАРИНА

А.В. Максименко*, Р.Ш. Бибилашвили

(ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии
Министерства здравоохранения Российской Федерации»; *e-mail:
alex.v.maks@mail.ru)

Выполнен молекулярный докинг 3D-модели бычьей тестикулярной гиалуронидазы с гликозаминогликановыми лигандами. В качестве последних использовали тример хондроитинсульфата и тетрамер гепарина. Методы вычислительной химии применены для выяснения регуляции функционирования гиалуронидазы в организме, когда гепариновый лиганд в активном центре биокатализатора вызывал его инактивацию, а хондроитинсульфатные лиганды проявляли защитное действие. Выявлены восемь значимых центров связывания лигандов, одинаково пригодных для взаимодействия с тримерами хондроитинсульфата и тетрамерами гепарина благодаря электростатическому связыванию. Обнаружена возможность протекания обратимых и необратимых конформационных изменений 3D-структуры фермента в зависимости от расположения на его глобуле отрицательно заряженных лигандов, способствующих инактивации и стабилизации биокатализатора в разных условиях. Выявлены центры на молекулярной поверхности гиалуронидазы, занятость которых оказывается достаточной для предотвращения необратимых деформаций конформации фермента при введении гепаринового лиганда в зону его активного центра. Продемонстрировано тонкое формирование эффективного вида поверхностного электростатического потенциала гиалуронидазы.

Ключевые слова: бычья тестикулярная гиалуронидаза, пространственная структура, гликозаминогликановые лиганды, электростатические взаимодействия, докинг, хондроитинсульфат, гепарин, поверхностный электростатический потенциал фермента, регуляция функционирования биокатализатора.

Использование ферментных производных в качестве лекарственных агентов интенсивно формирует область энзимотерапии. Перспективными средствами для регуляции состояния эндотелиального гликокаликса, представляющего собой первый защитный слой люминальной сосудистой поверхности [1, 2], проявили себя гликозидазы. Ответственными за метаболизм гиалуронана (одного из основных компонентов гликокаликса) считаются гиалуронидазы, входящие в состав гликозидаз [3]. Следует заметить, что коммерчески доступным медицинским препаратом, разрешенным в России для внутримышечных/подкожных инъекций и местного применения, является бычья тестикулярная гиалуронидаза (БТГ, ЕС 3.2.1.35). В настоящее время она превращается в значимый объект гликобиологических исследований [4]. Трудности их проведения обусловлены малой изученностью гиалуронидаз позвоночных, их весьма низкой концентрацией в организме (~60 нг/мл) и недостатком структурной информации [5]. Гиалу-

ронидазы позвоночных обнаруживают на порядок более высокую ферментативную активность, чем другие глобулярные биокатализаторы, но отличаются невысокой стабильностью при очистке и выделении [4, 5]. Актуальность получения модифицированных форм гиалуронидазы со стабильной эндогликозидазной активностью для медицинского применения [6] (сейчас для коррекции состояния гликокаликса используют только средства заместительной терапии) подчеркивает важность изучения молекулярной структуры таких производных для оптимизации их свойств.

Установление пространственной структуры гиалуронидазы человека [7] способствовало ее использованию в качестве прототипа для построения *in silico* методом гомологичного моделирования 3D-модели БТГ [8]. Функционированием БТГ в гликозаминогликановом (ГАГ) микроокружении обусловлен исследовательский интерес к выяснению закономерностей регуляции активности этого фермента при взаимодействии с

ГАГ-компонентами эндотелиального гликокаликса. Определение природы лимитирующих структурных воздействий на фермент раскрывает механизмы регуляции функционирования гиалуронидаз их микроокружением. При физиологических условиях молекула БТГ положительно заряжена (pI 8,62) /<http://www.uniprot.org/uniprot/Q7YS45/>, а ГАГ-лиганды несут отрицательный заряд [9]. Исследование развития электростатических взаимодействий между ними путем расчета их молекулярного докинга *in silico* (3D-модели БТГ с тримерами хондроитинсульфата (ХС) и тетрамером гепарина в его активном центре) стало целью нашего исследования.

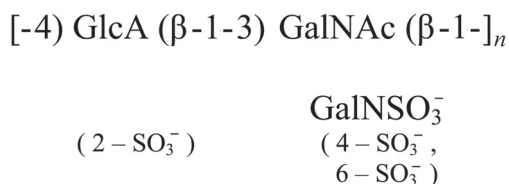
Расчетная часть

3D-модели нативной БТГ как в свободном виде, так и в комплексе с субстратом (здесь приведен додекамер гиалуронана), построенные нами ранее [8], были использованы в качестве исследуемой белковой структуры для проведения расчетного докинга с ХС и гепариновыми лигандами.

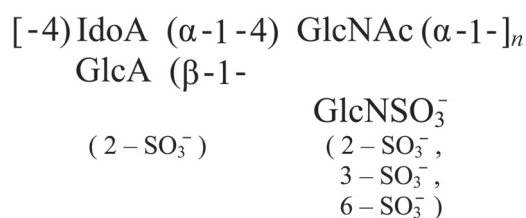
Молекулярный докинг был выполнен с помощью программ UCSF Chimera, DOCK и Swiss-PdbViewer [10–13]. Программа DOCK использовалась для выполнения докинга низкомолекулярной молекулы в статичную макромолекулу, а UCSF Chimera и Swiss-PdbViewer – для построения рисунков, наложения (суперпозиции) изображений и визуализации. Для расчета изоповерхности электростатического потенциала молекулярных комплексов применяли программное обеспечение PDB2PQR, APBS, UCSF Chimera и Delphi, используя силовые поля AMBER, GROMOS и CHARMM [14–19] в соответствии с уравнением Кулона и Больцмана–Пуассона. При выполнении докинга низкомолекулярную молекулу размещали в различных положениях по отношению к макромолекуле на расстоянии половины ее поперечного размера. Процедуру проводили многократно с моделированием реального времени. Обратимость/необратимость конформационных изменений БТГ определяли по степени возвращения структуры в исходное состояние за определенный интервал времени (50–100 пс). Следует отметить, что отсутствие изменений в белковой структуре при выполнении докинга в течение 50–100 пс означало, что она стабильна (т.е. не изменяется с точностью до колебаний конформаций, обусловленных тепловым движением). Потенциалы были выражены в натуральной системе единиц e/a_0 (где e – заряд электрона, а

a_0 – радиус Бора; величина потенциала $0,4 e/a_0$ соответствует в системе СИ примерно 1 В). За молекулярной динамикой следили с помощью программы NAMD [20].

Выбор ГАГ-лигандов /Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ для молекулярного докинга с 3D-моделью БТГ был произволен, поскольку не было известно, какой ГАГ-фрагмент селективно ингибирует БТГ. ГАГ обладают высокой конформационной гибкостью, благодаря чему только их короткие фрагменты (до тетрамеров) надежно рассчитываются. Это обусловило использование нами для вычислительного докинга тримера ХС ([GlcA-GalNAc]₃, где GlcA – сульфатированная по второму атому углерода глюкуроновая кислота, связанная через β1-3-гликозидную связь с сульфатированным по четвертому атому углерода N-ацетилгалактозамином – GalNAc) и тетрамера гепарина ([IdoA-GlcNAc(2,6)-IdoA-GlcNAc(2,6)-IdoA-GlcNAc(2,3,6)-IdoA-GlcNAc(2,6)]), где IdoA – сульфатированная по второму атому углерода идуроновая кислота, связанная глюкозамином посредством α-1-4-гликозидной связи с сульфатированным по второму и шестому (GlcNAc(2, 6)) или второму, третьему и шестому (GlcNAc(2, 3, 6)) атомам углерода (рис. 1). Длина выбранных молекулярных фрагментов ХС и гепарина соответствует в вытянутом состоянии поперечному размеру молекулы БТГ.



1



2

Рис. 1. Условные формулы структурных единиц полимерного остатка хондроитинсульфата (1) и сополимерно-го – гепарин / гепарансульфата (2)

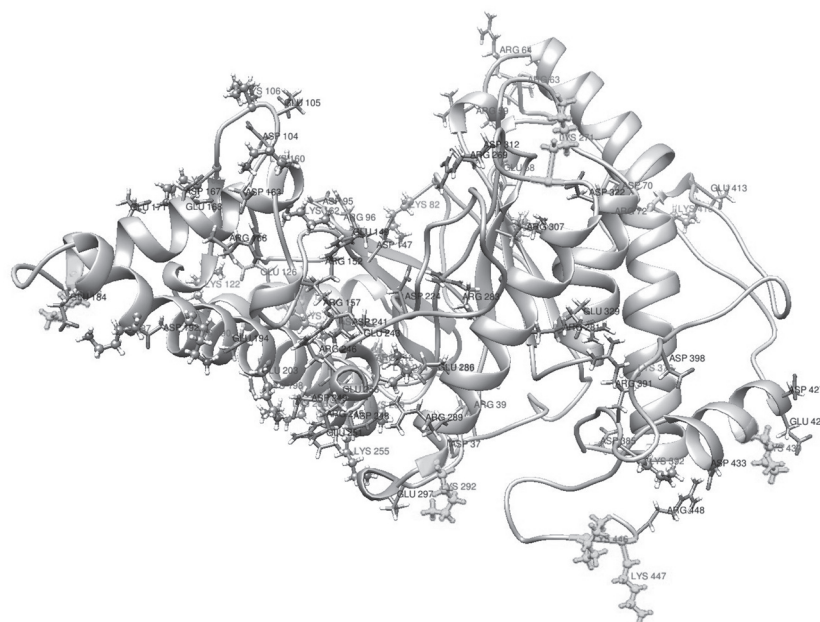


Рис. 2. Иллюстративное представление (в ленточно-нитевом виде) 3D-модели бычьей тестикулярной гиалуронидазы. Серым цветом (как, например, по позиции 446-447) выделены шесть участков с лизиновыми остатками первого уровня доступа для ковалентной модификации [8]

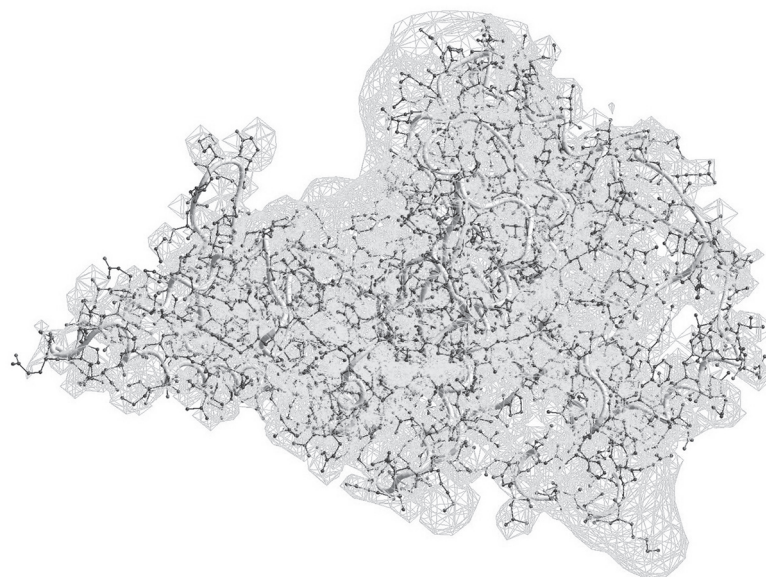


Рис. 3. Вид поверхностного электростатического потенциала (с его положительным значением – показано серой сетчатой оболочкой) свободной молекулы бычьей тестикулярной гиалуронидазы (здесь и далее: по уровню $0,4 e/a_0$).

Результаты и их обсуждение

Построение 3D-модели БТГ (рис. 2) помогло получить расчетные данные поверхностного электростатического потенциала свободного фермента (рис. 3). Его отличает заметное доминирова-

ние положительно заряженных областей белкового потенциала. Следует отметить, что электростатические эффекты влияют на стабильность сворачивания человеческого белка FKBP₁₂ [21], являются важной особенностью ингибиторов активности

сиртуина 2 [22], и в зависимости от диэлектрической константы среды изменяют свой вклад в белок-лигандные взаимодействия [23].

Расчеты электростатических белковых потенциалов используются для определения связывающих ГАГ-центров в индивидуальных системах для выявления поверхностных областей молекулы белка (как предположительных позиций ГАГ-связывания) [24]. Известно, что на поверхности белковой молекулы мотивы таких связывающих центров оказываются участками белковой цепи с последовательностями аминокислот вида $xVVxxVx$ или $xVVxVx$, где V – основная аминокислота (лизин, аргинин или гистидин) [9]. Эффективное связывание при работе с 3D-моделями белковых структур достигается при расположении рядом друг с другом двух центров связывания. В результате наших расчетов на молекулярной поверхности БТГ обнаружены двенадцать центров связывания ГАГ-лигандов. Мы рассмотрели восемь центров, свободная энергия связывания которых как минимум в два раза превышает энергию лигандов в свободном состоянии (рис. 4). Компьютерный расчет протекторного действия ХС-лиганда и ингибирующего/инактивирующего эффекта гепарина с 3D-моделью БТГ в водно-солевом окружении

(и без него) выполнялся с введением в систему разного количества ХС-лигандов и помещенного в полость активного центра фермента ингибитора – гепаринового лиганда. Энергия связывания лиганда, зависящая главным образом от электростатических взаимодействий ГАГ-лигандов с аргининовыми и лизиновыми остатками фермента, определялась как разница между энергией всего комплекса до и после удаления лиганда с последующим заполнением освобожденного пространства растворителем (рис. 4). Заметим, что фермент в комплексе с субстратом стабилен при любом положении или количестве ассоциированных с ним лигандов (ХС или гепариновых). В дальнейшем мы будем анализировать устойчивость свободного от субстрата биокатализатора, причем БТГ в присутствии всех восьми лигандов ХС на своих центрах связывания стабильна.

Наличие электростатических взаимодействий – необходимое условие докинга и взаимного распознавания ГАГ-лигандов и белков [25]. Градиент электрического потенциала белка оказывается движущей силой, обеспечивающей перемещение лиганда по направлению вектора этого градиента, приложенного к центру масс присоединяемого лиганда. Наши расчетные

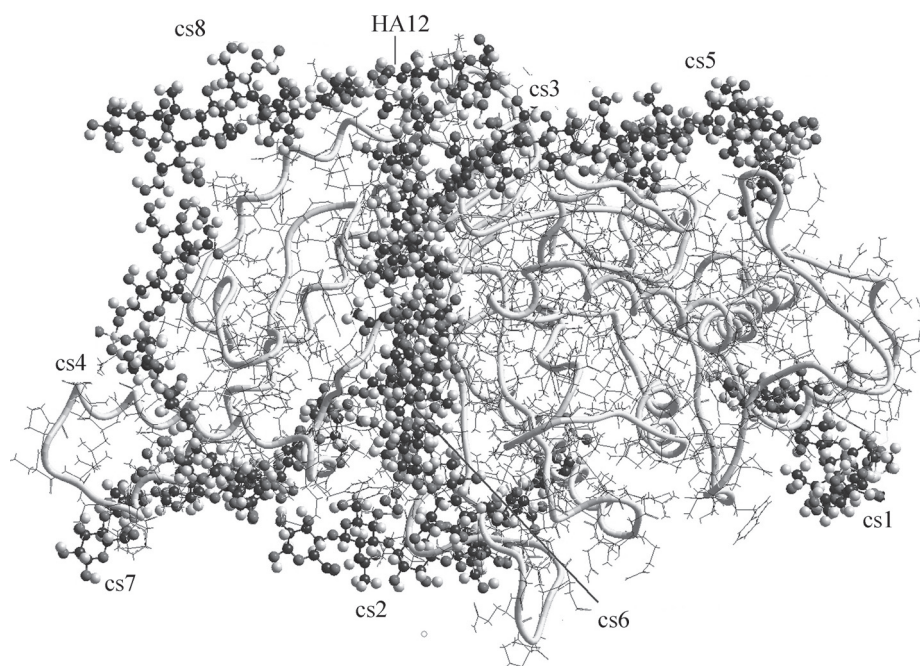


Рис. 4. Представление восьми центров связывания хондроитинсульфатных лигандов на 3D-модели бычьей тестикулярной гиалуронидазы (белковая цепь окрашена в серый цвет). Изображение представлено в проекции, образованной главными осями инерции додекамерного фрагмента субстрата – гиалуронана (HA12, показан в центре, главная ось инерции гиалуронана направлена по вертикали) и бычьей тестикулярной гиалуронидазы (ось направлена по горизонтали). Свободные энергии связывания центров при 0 К, ккал/моль: –448,5 (cs1); –360,2 (cs2); –513,6 (cs3); –145,5 (cs4); –201,6 (cs5); –577,6 (cs6); –348,1 (cs7); –752,2 (cs8); –2398,1 (HA12)

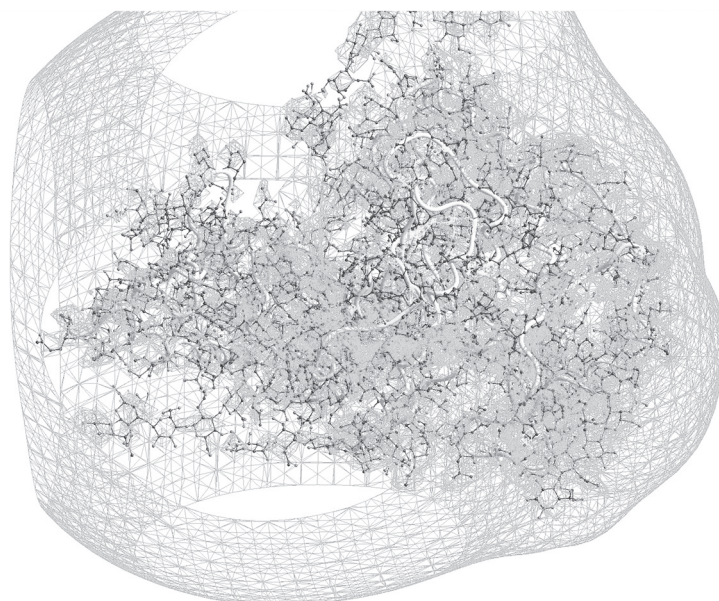


Рис. 5. Вид поверхностного электростатического потенциала (с доминирующим отрицательным значением, окрашен в серый цвет) молекулы бычьей тестикулярной гиалуронидазы со стабилизирующими ее структуру восемью лигандами – тримерами хондроитинсульфата

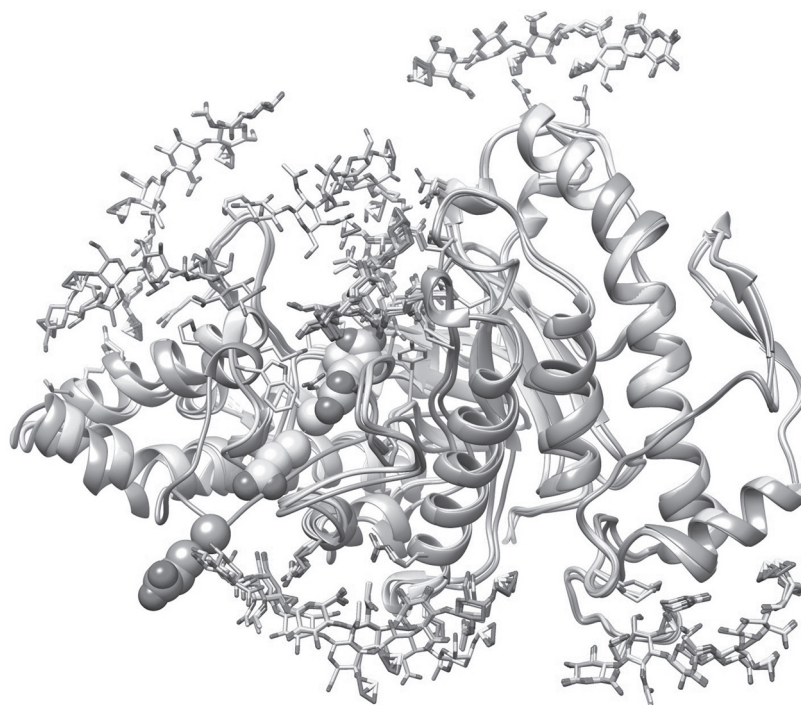


Рис. 6. Изменение конформации бычьей тестикулярной гиалуронидазы при присоединении четырех хондроитинсульфатных лигандов по центрам cs1, cs2, cs3, cs4 и тетрамера гепарина в зоне cs6. Наложенные белковые структуры, окруженные хондроитинсульфатными лигандами, соответствуют виду комплекса на 20, 60, 100, 140 и 180 пс динамики с окрашиванием структуры фермента, соответственно, все более темным цветовым тоном

данные наглядно показывают изменение поверхностного электростатического потенциала свободной БТГ (рис. 3) при взаимодействии с восемью тримерами ХС (рис. 5). Электрическое поле, создаваемое ферментом со всеми восемью лигандами охватывает белковый комплекс целиком и примерно повторяет профиль поверхности молекулы биокатализатора. Свободному ферменту присущ положительный потенциал (рис. 3), а ХС, окруженному оболочкой лигандов, – отрицательный (рис. 5). В обоих случаях система оказывается стабильной и введение в зону активного центра фермента тетрамера гепарина практически ничего не меняет в ней. Иная картина наблюдается при локализации фиксированных ХС-лигандов (по центрам cs1, cs2, cs3, cs4) и тетрамера гепарина в зоне cs6 (рис. 6). Напряженность электрического поля, созданная по градиенту его потенциала, вталкивает гепариновый лиганд в зону активного центра БТГ. Не закрепленная дисульфидными связями белковая петля активного центра БТГ между Asp139

и Ala156, включающая в себя ответственные за ферментативную активность остатки Asp147 и Glu149, выталкивается в зазор между протяженной альфа-спиралью от Ala185 до Gly197 и спиралью от Glu243 до Glu256. Это ведет к необратимой деформации молекулы фермента и его инактивации (рис. 7). Оказывается, электрическое поле, созданное лигандами по центрам cs1, cs2, cs3, cs4 и cs6 (рис. 8) не похоже на поле молекулы БТГ, стабилизированной окружением из восьми лигандов (рис. 5). По нашим данным, специфического связывания тетрамеров гепарина или тримеров ХС с активным центром БТГ не происходит. Развитие основных контактов обусловлено именно электростатическими взаимодействиями, для реализации которых важны аргининовые остатки, а при ковалентной модификации БТГ – лизиновые [8].

Электростатические взаимодействия, регулирующие перемещение лигандов гепарина или ХС при введении в область активного центра фермента (позиция cs6), определяют и нахождение

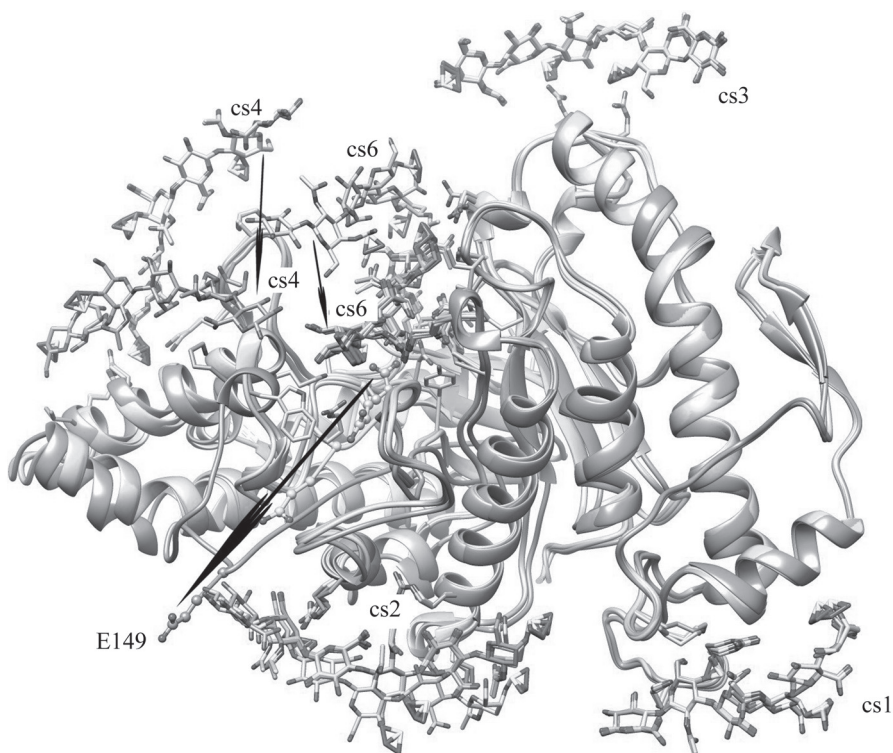


Рис. 7. Демонстрация необратимо конформационно измененной молекулы бычьей тестикулярной гиалуронидазы с перемещенными на периферию ферментной структуры ответственными за каталитическую активность аминокислотными остатками Glu149 и Asp147 (позиция Glu149 в начале и в конце конформационного перехода указана стрелкой) и значимым изменением положения цепи активного центра биокатализатора, приводящая к его инактивации. Расположение лигандов на центрах cs4 и cs6 указано до и после их вхождения в зону активного центра фермента. За все время динамики лиганды по центрам cs1 и cs3 остаются практически неподвижными относительно белка, а по центрам cs2, cs4, и cs6 движутся. Окраска структур фермента указана в подписи к рис. 6

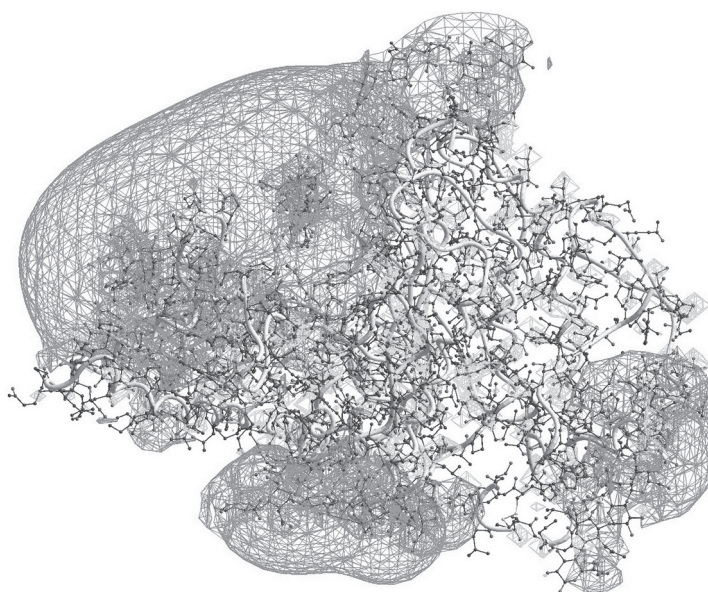


Рис. 8. Вид поверхностного электростатического потенциала молекулы бычьей тестикулярной гиалуронидазы, окруженной вызывающими ее инактивацию пятью гликозаминогликановыми лигандами по центрам cs1, cs2, cs3, cs4 (тримеры ХС) и cs6 (тетрамер гепарина). Серым цветом обозначены (три выраженных сетчатых образования) области отрицательного значения электростатического потенциала, а светло-серым – положительные

мест для их присоединения. Энергия связывания лиганда в позиции cs6 при отсутствии субстрата почти не отличается от его энергии в растворителе. Лиганд довольно быстро, по данным докинга, находит себе место вблизи cs3 и cs8. Третья последовательно добавленная молекула лиганда на позицию cs6 мигрирует к центру cs4. Никакой необратимой деформации конформации БТГ при этом не происходит. Стабильность структуры фермента задается электрическим полем, создаваемым ГАГ-лигандами. Определяющую роль играет расположение лигандов на молекулярной поверхности биокатализатора, а не их число. Введение четвертой молекулы в позицию cs6 (при распределении предыдущих трех молекул между центрами cs3, cs8, cs4 и cs5) вызывает движение лиганда к активному центру фермента. В результате происходит необратимая инактивация биокатализатора из-за деформации петли активного центра. Модельная иммобилизация ХС-лигандов по позициям cs1 и cs2 не приводит к защите биокатализатора от инактивации. Только ковалентная иммобилизация лигандов по центрам cs7 или cs7, cs1, cs5 (по данным докинга) полностью защищает БТГ от инактивации гепариновым лигандом. Приведенные данные теоретически демонстрируют регулирующую роль электростатических взаимодействий при молекулярном докинге БТГ с ГАГ-лигандами,

вызывая потерю активности биокатализатора или его стабилизацию в разных условиях. Следует напомнить, что деградация несulfатированного хондроитина под действием тестикулярной гиалуронидазы происходит эффективнее при более высоких значениях pH по сравнению с гиалуронатом [26]. 3D-структура гиалуронана и хондроитина отличается только позицией C-4 в гексозаминовом остатке. Такие тонкие структурные различия могут значительно регулировать соотношение структура/функция гиалуронидаз. Расчеты показывают стабилизацию структуры БТГ при взаимодействии с шестью ХС-лигандами по центрам cs7, cs1, cs2, cs3, cs4, cs8 и гепариновым лигандом в зоне cs6. Отличие вида возникающего при этом поверхностного электростатического потенциала белка (рис. 9) от такового для также стабильной конформации БТГ с восемью ХС-лигандами (рис. 5) подчеркивает тонкое формирование вида электрического поля ферментного комплекса, ассоциирующееся с отмеченной выше значимостью небольших структурных различий лигандов, регулирующих функционирование фермента. Аффинность связывания ГАГ-лигандов с ферментами определяется электростатическими и гидрофобными взаимодействиями [27], которые актуальны и для получения модифицированных производных биокатализаторов [28].

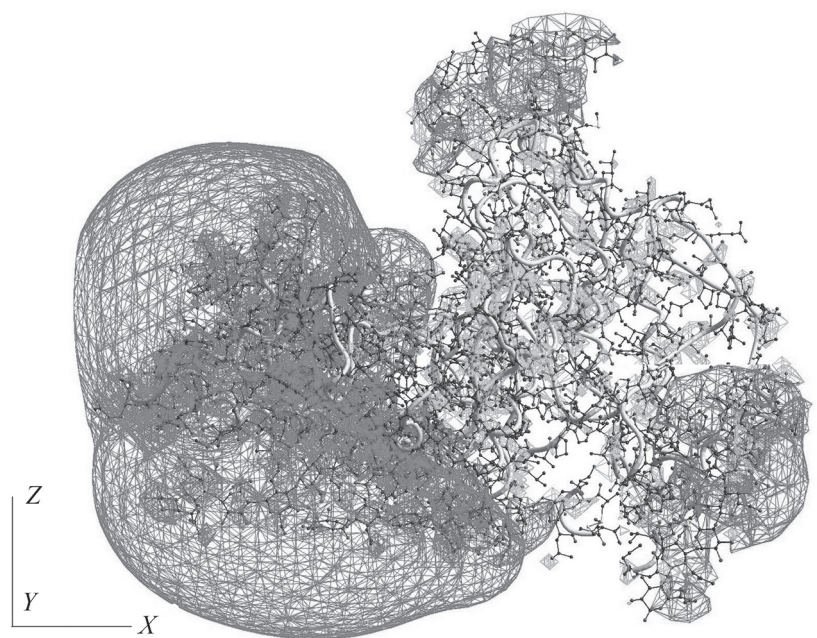


Рис. 9. Вид поверхностного электростатического потенциала молекулы бычьей тестикулярной гиалуронидазы с шестью стабилизирующими ее структуру тримерами ХС, связанным по центрам cs7, cs1, cs2, cs3, cs4, cs8, и гепариновым тетрамером по центру cs6. Серым цветом обозначены (три выраженных сетчатых образования) области отрицательного значения поверхностного электростатического потенциала, а светло-серым – положительные). Стабилизация структуры фермента инициируется присоединением лиганда ХС по центру cs7

Таким образом, целесообразным и перспективным предстает исследование изменений электрического поля с варьированием вида лигандов на БТГ, выяснение вклада гидрофобных

взаимодействий в таких системах, а также обоснование рекомендаций для экспериментальной верификации полученных теоретических заключений.

Настоящая работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 15-04-03584 и 18-015-00056) и Министерства здравоохранения Российской Федерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reitsma S., Slaaf D.W., Vink H., van Zandvoort M.A.M.J., onde Egbrink M.G.A. // *Pflüger's Arch.* 2007. Vol. 454. P. 345.
2. Максименко А.В. // *Изв. АН. Сер. хим.* 2015. № 9. С. 2036.
3. Stern R., Jedrzejewski M.J. // *Chem. Rev.* 2006. Vol. 106. P. 818.
4. Stern R., Jedrzejewski M.J. // *Chem. Rev.* 2008. Vol. 108. P. 5061.
5. Erickson M., Stern R. // *Biomed. Res. Int.* 2012. Vol. 2012. doi: 10.1155/2012/893947.
6. Максименко А.В., Щечилина Ю.В., Тищенко Е.Г. // *Биохимия.* 2003. Т. 68. С. 1055.
7. Chao K.L., Muthukumar L., Herzberg O. // *Biochemistry.* 2007. Vol. 46. P. 6911.
8. Максименко А.В., Турашев А.Д., Бибилашвили Р.Ш. // *Биохимия.* 2015. Т. 80. № 3. С. 348.
9. Максименко А.В. // *Хим.-фарм. журн.* 2008. Т. 42. № 10. С. 3.
10. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. // *J. Comput. Chem.* 2004. Vol. 25. N 13. P. 1605.
11. Sanner M.F., Olson A.J., Spehner J.C. // *Biopolymers.* 1996. Vol. 38. N 3. P. 305.
12. Lang P.T., Brozell S.R., Mukherjee S., Pettersen E.F., Meng E.C., Thomas V., Rizzo R.C., Case D.A., James T.L., Kuntz I.D. // *RNA.* 2009. Vol. 15. N 6. P. 1219.
13. Guex N., Peitsch M.C. // *Electrophoresis.* 1997. Vol. 18. P. 2714.
14. Dolinsky T.J., Czodrowski P., Li H., Nielsen J.E., Jensen J.E., Klebe G., Baker N.A. // *Nucleic Acids Res.* 2007. Vol. 35. P. W522.
15. Dolinsky T.J., Nielsen J.E., McCammon J.A., Baker N.A. // *Nucleic Acids Res.* 2004. Vol. 32. P. W665.
16. Baker N.A., Sept D., Joseph S., Holst M.J., McCammon J.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. Vol. 98. P. 10037.

17. Honig B., Nicholls A. // Science. 1995. Vol. 268. P. 1144.
18. Nicholls A., Sharp K., Honig B. // Proteins. 1991. Vol. . P. 281.
19. Klapper I., Hagstrom R., Fine R., Honig B. // Proteins. 1986. Vol. 1. P. 47.
20. Phillips J.C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R.D., Kale L., Schulten K. // J. Comput. Chem. 2005. Vol. 26. P. 1781.
21. Batra J., Tjong H., Zhou H.-X. // Prot. Eng. Des. Sel. 2016. Vol. 29. P. 301.
22. Sakkiah S., Arooj M., Kumar M.R., Eom S.H., Lee K.W. // PLoS One. 2013. Vol. 8. P. e51429.
23. Wang B., Li L., Hurley T.D., Meroneh S.O. // J. Chem. Inf. Model. 2013. Vol. 53. P. 2659.
24. Samsonov S.A., Pisabarro M.T. // Glycobiology. 2016. Vol. 26. P. 850.
25. Samsonov S.A., Teyra J., Pisabarro M.T. // J. Comput. Aided Mol. Des. 2011. Vol. 25. N 5. P. 477. doi: 10.1007/s10822-011-9433-1.
26. Honda T., Kaneiwa T., Mizumoto S., Sugahara K., Yamada S. // Biomolecules. 2012. Vol. 2. P. 549.
27. Gandhi N.S., Freeman C., Parish C.R., Mancera R.L. // Glycobiology. 2012. Vol. 22. P. 35.
28. Максименко А.В. // Изв. АН. Сер. хим. 2017. № 1. С. 1.

Поступила в редакцию 09.01.18

ELECTROSTATIC INTERACTIONS FOR DOCKING BOVINE TESTICULAR HYALURONIDASE 3D-MODEL WITH CHONDROITIN SULFATE TRIMERS AND HEPARIN TETRAMERS

A.V. Maksimenko*, R.S. Beabealashvili

(National Medical Research Center for Cardiology of Ministry of Health Care of Russian Federation; *e-mail: alex.v.maks@mail.ru)

Molecular docking 3D-model of bovine testicular hyaluronidase with glycosaminoglycan ligands was performed. Chondroitin sulfate trimer and heparin tetramer were used as ligands. Methods of computational chemistry were applied for elucidation of hyaluronidase functioning regulation, when heparin ligand inactivated biocatalyst and chondroitin sulfate ligand protected the enzyme structure. The eight binding sites on enzyme molecular surface were determined for glycosaminoglycan ligand coupling due to electrostatic interactions. Herewith there is the possibility for reversible and irreversible conformational alterations of 3D-model of enzyme. Suffusion of critical binding sites of hyaluronidase is sufficed for prevention of irreversible deformations of enzyme active site cave. The interaction of glycosaminoglycan ligands with hyaluronidase is determined by electrostatic forces mainly.

Key words: bovine testicular hyaluronidase, tertiary structure, glycosaminoglycan ligand, electrostatic interactions, docking, chondroitin sulfate, heparin, surface electrostatic enzyme potential, enzyme functioning regulation.

Сведения об авторах: Максименко Александр Васильевич – вед. науч. сотр.отдела биоинженерных технологий и поддержки научных исследований Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения РФ, профессор, докт. биол. наук (alex.v.maks@mail.ru); Бибилашвили Роберт Шалвович – руководитель лаборатории генной инженерии Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения РФ, канд. физ.-матем. наук (robert.bibilashvili@gmail.com).