УДК 576.32/36.577.4

# ВЛИЯНИЕ БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP70 НА МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА ФАГОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ

**[1]Юринская М.М., [1]Антонова О.Ю., [2]Евгеньев М.Б., [1]Винокуров М.Г.**

*[1]Институт биофизики клетки РАН, Пущино;*

*[2]Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, e-mail: mgvinokurov@rambler.ru*

Липополисахариды (LPS) играют важную роль в патогенезе грамотрицательного сепсиса и других заболеваний. В этих патологиях важное место принадлежит клеткам врожденного иммунитета, в том числе и фагоцитам крови. Взаимодействие LPS с TLR4 фагоцитов приводит к активации внутриклеточных сигнальных путей клеток-мишеней LPS и последующему клеточному ответу, который характеризуется увеличением продукции активных форм кислорода (АФК), синтезом провоспалительных цитокинов. При сепсисе и других воспалительных заболеваниях происходит увеличение синтеза и секреции белков теплового шока (HSP70). Целью работы было исследовать действие экзогенного HSP70 на внутриклеточные сигнальные пути, участвующие в генерации АФК при действии LPS. В работе показано, что фосфолипаза С (PLC), фосфатидилинозитол 3 киназа (PI3K), экстраклеточная сигнал-регулируемая киназа (ERK), p38 MAPK участвуют в механизме воздействия HSP70 на нейтрофилы и моноциты человека.

**Ключевые слова: липополисахарид, экзогенный рекомбинантный белок теплового шока HSP70, фагоциты крови, активные формы кислорода**

# THE EFFECT OF HEAT SHOCK PROTEIN HSP70 ON THE MECHANISMS OF CELLULAR RESPONSES OF BLOODPHAGOCYTES AT THE ACTIONOF LIPOPOLYSACCHARIDES

**[1]Yurinskaya M.M., [1]Antonova O.Y., [2]Evgenev M.B., [1]Vinokurov M.G.**

*[1]Institute of Cell Biophysics of RAS, Pushchino;*

*[2]Engelhardt Institute of Molecular Biology of RAS, Moscow, e-mail: mgvinokurov@rambler.ru*

Lipopolysaccharides (LPS) play an important role in the pathogenesis of gram-negative sepsis and other diseases. The cells of innate immune, including blood phagocytes, playan important role in these pathologies. Interaction of LPS and TLR4 of phagocytes leads to activation of intracellular signaling pathways of the cell-target of LPS and the subsequent cellular response, which is characterized increasing production of reactive oxygen species (ROS) and the synthesis of proinflammatory cytokines. Synthesis and secretion of heat shock protein (HSP70)are increased at the sepsis and other inflammatory diseases. The goal of this study was to investigate the effect of exogenousHSP70 on intracellular signaling pathwaysinvolved in the generation of ROS at the action of LPS. It is shown that phospholipase C (PLC), phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), extracellular signal – regulated kinase (ERK), p38 MAPK are involved in the mechanism of the HSP70 action on human neutrophils and monocytes.

**Keywords: lipopolyssacharide, exogenous recombinant heat shock protein HSP70, blood phagocytes, reactive oxygen species**

Эндотоксины (липополисахариды (LPS)) играют важную роль в грамотрицательном сепсисе и других заболеваниях [8]. Поступая в кровь, LPS взаимодействуют с клетками-мишенями, что приводит к образованию рецепторного комплекса в мембране клеток [10]. Далее сигнал от этого комплекса передается через сигнальные пути к факторам транскрипции клеток. После этого развивается клеточный ответ, который характеризуется увеличением генерации активных форм кислорода (АФК), факторов адгезии, синтезом провоспалительных цитокинов [2]. При сепсисе и других воспалительных заболеваниях происходит увеличение синтеза и секреции белков теплового шока, в том числе белка теплового шока с молекулярной массой 70 кДа (HSP70), увеличивается их концентрация в крови [9]. HSP70 играет важную роль в механизме защиты организма от теплового и других видов стресса. Ранее нами было показано, что внеклеточный HSP70 подавляет LPS-индуцируемую активацию нейтрофилов [1]. В данной работе исследовано действие HSP70 на внутриклеточные сигнальные пути, участвующие в генерации АФК фагоцитами крови (нейтрофилами и моноцитами), при действии LPS.

## Материалы и методы исследования

Нейтрофилы выделяли из периферической крови здоровых доноров-добровольцев методом дифференциального центрифугирования на 2-слойном градиенте фиколла–верографина (1,119 и 1,077 г/мл) [1]. Моноциты выделяли центрифугированием мононуклеарной фракции на градиенте перколла плотностью 1,064 г/мл [12]. Генерацию АФК определяли методом хемилюминесценции (ХЛ) с использованием люминола по [1]. HSP70 получали, как описано в [11]. Для исследования роли сигнальных путей в механизме действия HSP70 на клетки были использованы: SB203580 (ингибитор p38 MAPK), PD98059

(ингибитор ERK1), U0126 (ингибитор ERK1/2), вортманнин (ингибитор PI3K), LY294002 (ингибитор PI3K), U73122 (ингибитор PLC), SP600125 (ингибитор JNK), Bay 11-7082 (ингибитор NF-κB). Ингибиторы инкубировали с клетками в течение 30 мин, затем добавляли HSP70. Через 10 минут после добавления 1 мкг/млHSP70 к клеткам добавляли 20 нг/мл LPS и праймировали клетки в течение 20 мин. В качестве вторичного стимула использовали 1 мкМ formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine(fMLP). В работе использовали реактивы фирмы Sigma-Aldrich (США). Результаты экспериментов приведены в виде значений в процентах от контроля ± стандартная ошибка среднего. Для сравнения активирующего и ингибирующего воздействия HSP70, LPS в таблицах приведены экспериментальные результаты за вычетом контроля (100 %).

## Результаты исследования и их обсуждение

Одним из ранних событий ответа фагоцитов на действие эндотоксинов является продукция АФК этими клетками. НАДФН-оксидаза играет важную роль в патогенезе сепсиса [5]. Ранее нами было показано, что внеклеточный HSP70 значительно снижает LPS-индуцированную генерацию АФК этими клетками, т.е. защищает фагоциты от действия эндотоксинов [1]. Известно, что сборка и активация NADPH-оксидазы напрямую зависят от активации фосфолипазы С (PLC) и фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)[4].

Мы исследовали участие фосфолипазы С в продукции АФК нейтрофилами и моноцитами с использованием ингибитора PLC-U73122. Полученные нами данные показали, что PLC участвует в генерации АФК нейтрофилами при действии LPS, поскольку U73122 в концентрации 1 мкг/мл на 54,6 % снижает генерацию АФК контрольных клеток (табл. 1) и на 196,2 % LPS-праймированных нейтрофилов (табл. 1). В моноцитах U73122 на 13 % увеличивает генерацию АФК контрольных клеток, но на 65 % уменьшает индуцируемый LPS респираторный взрыв этих клеток (табл. 2). HSP70 отменял вызванное действием U73122 ингибирование продукции АФК нейтрофилами и моноцитами. В работе [3] было показано, что ингибирование фосфолипазы С под действием U73122 заканчивалось быстрым, в течение 10 минут, уменьшением содержания внутриклеточного HSP70. Исходя из наших данных и результатов [3], можно предположить, что U73122 ингибирует PLC, приводя к снижению содержания внутриклеточного и повышению внеклеточного HSP70, а истощение внутриклеточного белка, в свою очередь, приводит к повышению активации NADPH-оксидазы с участием PLC в процессе продукции АФК.

Инкубирование нейтрофилов и моноцитов с 50 нМ вортманнина – ингибитора PI3K – примерно на 50 % снижает генерацию АФК как контрольными, так и LPS-праймированными клетками (табл. 1 и 2). Это может указывать на то, что LPS для индукции АФК использует не только PI3K- зависимую передачу сигнала, но и другие сигнальные молекулы для активации NADPH-оксидазы. В присутствии HSP70 вортманнин лишь незначительно ингибировал продукцию АФК нейтрофилами и моноцитами (табл. 1 и 2). Вортманнин незначительно ингибировал генерацию АФК нейтрофилами и не влиял на уровень ХЛ моноцитов в случае предварительного инкубирования клеток с HSP70 перед последующим добавлением LPS.

**Таблица 1**

Влияние ингибиторов сигнальных путей на генерацию АФК нейтрофилами

| Ингибитор | Контроль | HSP70 | LPS | HSP70 + LPS |
|---|---|---|---|---|
| — | 0,00 ± 1,2 | –13,90 ± 5,90 | 133,00 ± 11,86 | 20,10 ± 0,90 |
| PD98059 | –6,00 ± 2,29 | 11,10 ± 5,10 | 72,50 ± 11,30 | 46,90 ± 3,26 |
| SB203580 | –17,80 ± 2,27 | –18,40 ± 5,43 | –29,00 ± 2,86 | –8,20 ± 2,30 |
| Вортманнин | –52,20 ± 1,19 | –19,58 ± 2,00 | 24,40 ± 11,87 | 37,30 ± 1,33 |
| LY294002 | –60,60 ± 3,70 | –76,00 ± 0,44 | –28,10 ± 5,20 | –42,90 ± 4,87 |
| U0126 | –31,60 ± 6,99 | –18,10 ± 3,25 | –36,84 ± 7,01 | –58,30 ± 2,19 |
| U73122 | –54,60 ± 5,60 | 0,39 ± 0,38 | –63,20 ± 7,80 | –12,40 ± 5,43 |
| SP600125 | –82,50 ± 5,10 | –86,00 ± 0,54 | –77,00 ± 0,96 | –85,40 ± 0,73 |
| Bay 11-7082 | –56,94 ± 6,80 | –43,10 ± 10,34 | –50,70 ± 7,45 | –63,20 ± 3,88 |

Другим ингибитором PI3K является LY294002, который в отличие от вортманнина ингибирует еще и протеинкиназу B (PKB) [7]. В наших экспериментах LY294002 в концентрации 2 мкМ снижал активированное LPS увеличение хемилюминесценции клеток, а также генерацию АФК в присутствии HSP70 (табл. 1 и 2).

**Таблица 2**

Влияние ингибиторов сигнальных путей на генерацию АФК моноцитами

| Ингибитор | Контроль | HSP70 | LPS | HSP70 + LPS |
|---|---|---|---|---|
| — | 0,00 ± 1,80 | –5,31 ± 5,27 | 114,60 ± 13,60 | 23,40 ± 1,20 |
| PD98059 | –5,00 ± 6,32 | –10,00 ± 4,18 | 34,60 ± 9,60 | 3,96 ± 6,73 |
| SB203580 | –46,00 ± 6,66 | –44,00 ± 8,40 | –29,70 ± 11,07 | –26,80 ± 2,98 |
| Вортманнин | –45,20 ± 8,00 | –17,17 ± 6,90 | 30,82 ± 10,95 | 26,78 ± 8,66 |
| LY294002 | –27,00 ± 3,70 | –51,45 ± 6,34 | 2,40 ± 8,40 | –22,40 ± 4,66 |
| U0126 | –47,81 ± 1,65 | –38,40 ± 4,50 | 34,40 ± 9,50 | –43,00 ± 2,20 |
| U73122 | 13,70 ± 3,50 | –7,20 ± 2,11 | 38,52 ± 7,84 | –34,30 ± 5,50 |
| SP600125 | –64,80 ± 1,72 | –71,40 ± 0,34 | –57,60 ± 1,40 | –77,40 ± 1,20 |
| Bay 11–7082 | 126,80 ± 18,29 | 140,68 ± 18,00 | 252,06 ± 17,90 | 110,48 ± 16,24 |

Эффект защиты нейтрофилов и моноцитов белком HSP70 от действия LPS сохранялся в присутствии LY294002, однако значения ХЛ были значительно меньше, в чем в клетках без этого ингибитора (табл. 1 и 2). Наблюдаемая разница в ингибировании исследованных процессов при действии вортманнина и LY294002, возможно, связана с селективностью данных соединений и с разным механизмом их действия [7], т.к. LY294002 сильнее, чем вортманнин инактивирует передачу сигнала с PI3K на протеинкиназу B (PKB) [6]. Наши результаты указывают на то, что PI3K, по-видимому, участвует во внутриклеточных событиях, запускаемых взаимодействием нейтрофилов с экзогенным HSP70.

Под действием fMLP происходит фосфорилирование всех трех митоген-активируемых протеинкиназ (MAP киназ): экстраклеточных сигнал-регулируемых киназ 1 и 2 (ERK1/2), p38 киназы и c-JunN-терминальной киназы (JNK/SAPK). Как видно из результатов, представленных в табл. 1, под действием 25 мк MU0126-ингибитора ERK1/2 происходило ингибирование продукции АФК нейтрофилами, в отличие от PD98059 (1 мкМ) – ингибитора ERK1, который не оказывал влияния на генерацию АФК. Кроме того, U0126 не влиял на генерацию АФК нейтрофилами проинкубированными с HSP70. А при обработке нейтрофилов ингибитором PD98059 в присутствии HSP70 значение ХЛ увеличивалось на 25,3 %. Данные результаты указывают на то, что ERK1/2 не участвуют в fMLP-стимулируемом образовании АФК, также как и в продукции АФК при взаимодействии нейтрофилов с HSP70. При этом наблюдается сильное ингибирование продукции АФК LPS-активированных нейтрофилов ингибитором U0126 (табл. 1), что подчеркивает независимую от стимуляции fMLP роль ERK1/2 в TLR4-зависимой активации NADPH-оксидазы под действием LPS. В данном исследовании мы показали, что различные ингибиторы ERK по-разному действуют на генерацию АФК клетками в присутствии HSP70. Ингибитор ERK1/2 – U0126 – снижает значения ХЛ при предварительной обработке нейтрофилов с HSP70 и последующим добавлением LPS ниже уровня ХЛ клеток, обработанных только U0126. При этом ингибитор ERK1-PD98059 не снижает продукцию АФК в условиях предварительного инкубирования клеток с HSP70 до добавления LPS. Это может говорить о том, что защитный эффект HSP70 от действия LPS реализуется с участием ERK2.

В случае моноцитов U0126 в 2 раза снижал fMLP – стимулируемую генерацию АФК этими клетками, однако ингибитор ERK1 – PD98059 не влиял на продукцию АФК контрольными моноцитами, что может быть связано с тем, что в активации NADPH-оксидазы при стимуляции fMLP моноцитов ERK2 задействована в большей степени. U0126 и PD98059 в равной степени снижали LPS-индуцируемое образование АФК моноцитами. Возможно, что при действии LPS на моноциты в числе прочих сигнальных молекул активируется ERK1/2, что запускает сборку субъединиц NADPH-оксидазы.

Инкубирование моноцитов с PD98059 (табл. 2) практически не влияло на продукцию АФК в присутствии HSP70. Также данный ингибитор снижал интенсивность ХЛ предварительно обработанных с HSP70 моноцитов практически до значений, соответствующих значениям клеток, обработанных только с ингибитором. Однако U0126 снижал генерацию АФК моноцитами,

инкубированными с HSP70 и ХЛ моноцитов, предварительно обработанных HSP70 до добавления LPS, до значений, близких к значениям ХЛ клеток, обработанных только ингибитором. Можно сделать предположение, что ERK2 вовлечена в реализацию защитного эффекта экзогенного HSP70 от действия LPS. Кроме того, в работе [6] было показано, что экзогенный HSP70 при связывании с TLR4 активирует ERK, которые, в свою очередь, ингибируют синтез внутриклеточного HSP70.

Ингибирование c-JunN-терминальной киназы JNK ингибитором SP600125 в концентрации 20 мкМ снижает ХЛ контрольных и инкубированных с LPS нейтрофилов и моноцитов (табл. 1 и 2). Кроме того, наблюдается сильное ингибирование респираторного взрыва у клеток, проинкубированных с HSP70 и у клеток, предварительно обработанных с HSP70 перед последующим добавлением LPS. Данные результаты показывают, что экзогенный HSP70 при генерации АФК фагоцитами действует на клетки с участием JNK.

Инкубирование с 0,5 мкMSB203580 – ингибитором p38MAPK – не влияло на ХЛ контрольных нейтрофилов (табл. 1), но снижало величину ХЛ контрольных моноцитов почти в 2 раза (табл. 2). При этом ингибитор p38MAPK снижал LPS-индуцированное увеличение ХЛ до уровня ХЛ клеток в присутствии этого блокатора, подтверждая важную роль p38MAPK в образовании АФК нейтрофилами и моноцитами под действием LPS. Также SB203580 снижал значения ХЛ нейтрофилов, предварительно инкубированных с HSP70 до обработки с LPS. Однако он не снижал образование АФК нейтрофилами, проинкубированными с HSP70, что может указывать на то, что p38MAPK не принимает участия в активации NADPH-оксидазы при стимуляции fMLP и генерации АФК в присутствии HSP70. Однако можно предположить, что p38MAPK участвует в защитном действии экзогенного HSP70 при активации клеток LPS.

Ингибитор NF-κB -Bay 11-7082 в концентрации 2 мкМ вызывает снижение продукции АФК нейтрофилами (табл. 1). Кроме того, Bay 11-7082 значительно снижает LPS-индуцируемую генерацию АФК, полностью ингибируя LPS-индуцируемую передачу сигнала. Bay 11-7082 значительно снижает величину ХЛ нейтрофилов, инкубированных с HSP70. Наиболее сильное ингибирование наблюдалось при комбинированном воздействии на клетки Bay 11-7082, HSP70 и LPS, что позволяет предположить, что NF-κB участвует в защитном эффекте HSP70 от действия LPS (табл. 1). Bay 11-7082 увеличивает генерацию АФК контрольными моноцитами (табл. 2), что согласуется с данными [13]. При этом также наблюдается значительное увеличение генерации АФК моноцитами в присутствии HSP70, и некоторое увеличение продукции АФК при действии LPS и в случае предварительного инкубирования клеток с HSP70 и последующего добавления LPS. Увеличение продукции АФК моноцитами в присутствии ингибитора может говорить о том, что NF-κB служит отрицательным регулятором активации NADPH-оксидазы в данной клеточной модели.

Как следует из наших результатов, в реализации защитного действия HSP70 от LPS у нейтрофилов принимает участие ERK2, а у моноцитов – ERK1/2. Кроме того, при взаимодействии экзогенного HSP70 с нейтрофилами p38MAPK не вовлечена в процесс генерации АФК, но участвует в защитном эффекте HSP70 от действия LPS, а в случае моноцитов p38MAPK задействована и в трансдукции сигнала HSP70, и в защитном эффекте HSP70.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 12-04-31331 мол_а.*

**Список литературы**

1. Юринская М.М., Винокуров М.Г., Зацепина О.Г., Гарбуз Д.Г., Гужова И.В., Рожкова Е.В., Сусликов А.В., Карпов В.Л., Евгеньев М.Б. // Доклады Академии наук. – 2009. – Т. 426, № 3. – С. 406–409.

2. Buttenschoen K., Radermacher P., Bracht H. Endotoxin elimination in sepsis: physiology and therapeutic application // Langenbecks Arch. Surg. – 2010. – Vol. 395, № 6. – P. 597–605.

3. Evdonin A.L., Guzhova I.V., Margulis B.A., Medvedeva N.D. // Cancer Cell Int. – 2004. – Vol. 4, № 1. – P. 2.

4. Hawkins P.T., Davidson K., Stephens L.R. The role of PI3Ks in the regulation of the neutrophil NADPH oxidase. // Biochem Soc Symp. – 2007. – № 74. – P. 59–67.

5. Kong X., Thimmulappa R., Kombairaju P., Biswal S. // The Journal of Immunology. – 2010.-Vol. 185, № 1. – P. 569–577.

6. Lee K.H., Jeong J., Yoo C.G. Positive feedback regulation of heat shock protein 70 (Hsp70) is mediated through toll-like receptor 4-PI3K/Akt-glycogen synthase kinase-3b pathway // Exp. Cell. Res. – 2013. – Vol. 319, № 1. – P. 88–95.

7. Lianguzova M.S., Chuykin I.A., Nordheim A., Pospelov V.A. // Cell Biol Int. – 2007 – Vol. 31, № 4. – P. 330–337.

8. McIntyre C.W. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease // Clin J Am Soc Nephrol. – 2011. – Vol. 6. – № 1. – P. 133–141.

9. Molvarec A., Rigó J.Jr., Lázár L., Balogh K., Makó V., Cervenak L., Mézes M., Prohászka Z. // Cell Stress Chaperones. – 2009. –V. 14, № 2. – P. 151–159.

10. Park B.S., Song D.H., Kim H.M., Choi B.S., Lee H., Lee J.O. // Nature. – 2009. – Vol. 458, № 7242. – P. 1191–1195.

11. Rozhkova E., Yurinskaya M., Zatsepina O., Garbuz D., Surkov S, Murashev A., Ostrov V., Margulis B., Evgen'ev M., Vinokurov M. // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2010. – Vol. 1197. – P. 94–107.

12. Vinokurov M., Ostrov V., Yurinskaya M., Garbuz D., Murashev A., Antonova O., Evgen'ev M. // Cell Stress Chaperones. – 2012. – Vol. 17, № 1. – P. 89–101

13. Zanotto-Filho A., Delgado-Cañedo A., Schröder R., Becker M., Klamt F., Moreira J.C. // Cancer Lett. – 2010. – Vol. 288, № 2. – P. 192–203.

## References

1. Yurinskaya M.M., Vinokurov M.G., Zatsepina O.G., Garbuz D.G., Guzhova I.V., Rozhkova E.A., Suslikov A.V., Karpov V.L., Evgen'ev M.B. // Dokl Biol Sci. 2009. Vol. 426, no. 3. pp. 406–409.

2. Buttenschoen K., Radermacher P., Bracht H. Endotoxin elimination in sepsis: physiology and therapeutic application // Langenbecks Arch. Surg. 2010. Vol. 395, no. 6. pp. 597–605.

3. Evdonin A.L., Guzhova I.V., Margulis B.A., Medvedeva N.D. // Cancer Cell Int. 2004. Vol. 4, no. 1. P.2.

4. Hawkins P.T., Davidson K, Stephens L.R. The role of PI3Ks in the regulation of the neutrophil NADPH oxidase. // Biochem Soc Symp. 2007. no. 74. pp. 59–67.

5. Kong X., Thimmulappa R., Kombairaju P., Biswal S. // The Journal of Immunology. 2010.-Vol. 185, no. 1. pp. 569–577.

6. Lee K.H., Jeong J., Yoo C.G. Positive feedback regulation of heat shock protein 70 (Hsp70) is mediated through toll-like receptor 4-PI3K/Akt-glycogen synthase kinase-3b pathway // Exp. Cell. Res. 2013. Vol. 319, no. 1. pp. 88–95.

7. Lianguzova M.S., Chuykin I.A., Nordheim A., Pospelov V.A. // Cell Biol Int. 2007 Vol. 31, no. 4. pp. 330–337.

8. McIntyre C.W. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease // Clin J Am Soc Nephrol. 2011. Vol. 6. no. 1. pp. 133–141.

9. Molvarec A., Rigó J.Jr., Lázár L., Balogh K., Makó V., Cervenak L., Mézes M., Prohászka Z. // Cell Stress Chaperones. 2009. Vol. 14, no. 2. pp. 151–159.

10. Park B.S., Song D.H., Kim H.M., Choi B.S., Lee H., Lee J.O. // Nature. 2009. Vol. 458, no. 7242. pp. 1191–1195.

11. Rozhkova E., Yurinskaya M., Zatsepina O., Garbuz D., Surkov S., Murashev A., Ostrov V., Margulis B., Evgen'ev M., Vinokurov M. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2010. Vol. 1197. pp. 94–107.

12. Vinokurov M., Ostrov V., Yurinskaya M., Garbuz D., Murashev A., Antonova O., Evgen'ev M. // Cell Stress Chaperones. 2012. Vol. 17, no. 1. pp. 89–101.

13. Zanotto-Filho A., Delgado-Cañedo A., Schröder R., Becker M, Klamt F, Moreira JC. // Cancer Lett. 2010. Vol. 288, no. 2. pp. 192–203.

**Рецензенты:**

Моренков О.С., д.б.н., заведующий лабораторией ИБК РАН, г. Пущино;

Чемерис Н.К., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник ИБК РАН, г. Пущино.

Работа поступила в редакцию 27.11.2013.