

УДК 577.112.083, 57.054, 57.084.1, 577.175.722

НОВЫЙ БИОРЕГУЛЯТОР ИЗ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

¹Кузнецова Д.П., ¹Березин Б.Б., ¹Ильина А.П., ²Ямскова В.П., ¹Ямсков И.А.

¹ФГБУН «Институт элементоорганических соединений

им. А.Н. Несмеянова» РАН, Москва, e-mail: kuznetsova.dil@yandex.ru;

²ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН, e-mail: Yamskova-vp@yandex.ru

В ткани поджелудочной железы крупного рогатого скота была обнаружена биологически активная пептидосодержащая фракция. Данная фракция была проанализирована методами SDS-электрофореза, обращенно-фазовой ВЭЖХ, MALDI-TOF масс-спектрометрии и динамическим лазерным светорассеиванием. Также на модели экспериментального диабета у крыс *in vivo* продемонстрировано протекторное действие данной фракции в сверхмалой дозе на ткань поджелудочной железы в условиях ее токсического повреждения. Полученные физико-химические характеристики, а именно полимодальный вид мембранотропной активности, пептидов с молекулярной массой до 12300 Да, присутствие в растворах данной фракции наноразмерных частиц размером 200 нм и характер биологической активности говорит о сходстве обнаруженной фракции с мембранотропными гомеостатическими тканеспецифическими биорегуляторами (МГТБ), которые ранее были идентифицированы в различных тканях животных и растений.

Ключевые слова: поджелудочная железа, биорегуляторы, пептиды, сахарный диабет, стрептозотцин

THE NEW BIOREGULATOR FROM THE PANCREAS OF CATTLE

¹Kuznetsova D.P., ¹Berezin B.B., ¹Irina A.P., ²Yamskova V.P., ¹Yamakov I.A.

¹Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences,

Moscow, e-mail: kuznetsova.dil@yandex.ru;

²Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences,

Moscow, e-mail: Yamskova-vp@yandex.ru

In pancreas tissue of cattle a biologically active peptid-containing fraction was found. This fraction was analysed by methods of a SDS electrophoresis, RP HPLC, MALDI-TOF mass spectrometry and a dynamic light scattering. Also a protective action of this fraction in ultra-low dose on pancreas tissue is shown on model of experimental toxic damage-induced diabetes at rats *of in vivo*. The obtained physical and chemical characteristics, especially a polymodal view of membranotropic activity, peptides with a molecular weight up to 12300 Da, presence of this fraction in solutions in a form of nanodimensional particles about 200 nanometers in size, and character of biological activity indicate the similarity of the fraction investigated to the membranotropic homeostatic tissue-specific bioregulators (MHTB) which were earlier identified in various tissues of animals and plants.

Keywords: pancreas, bioregulators, peptides, diabetes, streptozotocin

Нарушение функции поджелудочной железы является причиной возникновения тяжелых заболеваний, в частности сахарного диабета, развитие которых может привести к летальному исходу. Поэтому идентификация новых веществ, регулирующих основные процессы жизнедеятельности в поджелудочной железе, является исключительно актуальной проблемой современной биологии. В связи с этим вызывает интерес группа мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов (МГТБ), влияющих в сверхмалых дозах на такие важнейшие биологические процессы, как клеточная адгезия, миграция, пролиферация и дифференцировка клеток [4]. Биорегуляторы данной группы локализованы в межклеточном пространстве тканей, и их биологическое действие характеризуется отсутствием видовой, но наличием тканевой специфичности. МГТБ име-

ют сложное строение: в их состав входят пептиды, определяющие активность биорегуляторов, а также белки, модулирующие биологическое действие данных пептидов [7]. Установлено, что МГТБ способствуют процессам восстановления и репарации в патологически измененных тканях [4, 5].

Целью исследования было изучение ряда физико-химических свойств и биологическое действие низкомолекулярной компоненты биорегулятора, выделенного из поджелудочной железы крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследования

Получение и очистка тканевого экстракта. В работе использовалась свежeweделенная ткань поджелудочной железы крупного рогатого скота (бойный материал ОАО «Мясокомбинат Раменский»). Фрагменты ткани экстрагировали в растворе Рингера (0,15 М NaCl, 1 мМ CaCl₂, 5 мМ KCl, 1 мМ Hepes) 2 часа при 4°C. Полученный экстракт центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин. Далее в тканевой

экстракт добавляли сухой сернокислый аммоний (780 г/л) до образования насыщенного раствора и инкубировали в течение 72 ч при 0–4°. Надосадочную жидкость (супернатант) и осадок собирали и диализовали до полного удаления ионов аммония и исследовали адгезиометрическим методом, в основе которого лежит оценка параметра, характеризующего изменение вязкоупругих свойств плазматической мембраны клеток при стандартном деформационном воздействии [6].

Адгезиометрический метод. Эксперименты проводили *in vitro* на органных культурах печени мышей – гибридов C57Bl/CBA F1 (18–20 г, самцы), содержащихся в виварии Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Фрагменты ткани массой от 0,7 до 2 мг инкубировали в течение 120 мин при 37°C в пенициллиновых флаконах, содержащих 1 мл раствора исследуемой фракции различной концентрации после 10-кратного последовательного разведения её в среде 199. Контрольная серия содержала фрагменты ткани, культивируемые в 1 мл среды 199. Для приготовления растворов исследуемых образцов к 0,1 мл каждой фракции добавляли 0,9 мл среды 199, интенсивно перемешивали, отбирали аликвоту объемом 0,1 мл, к которой добавляли 0,9 мл той же питательной среды. Разведение повторяли до разбавления исходного раствора в 10^{15} раз. Вследствие высокого содержания воды образцы с 10- и 100-кратным разведением исходного раствора не исследовали. После инкубации фрагменты извлекали, сушили, взвешивали и диспергировали в 0,1 мл 0,1 %-го раствора трипанового синего в среде 199, используя стеклянный гомогенизатор с зазором 50 мкм. Полученную суспензию клеток и клеточных ядер помещали в камеру Горяева. Для каждой экспериментальной точки (отдельная доза) просчитывали не менее 5 фрагментов ткани. Мембранотропную активность рассчитывали по формуле

$$M_a = 200\% - [(N_{\text{оп}}/N_{\text{к}}) \cdot 100\%],$$

где M_a – параметр, отображающий мембранотропную активность; $N_{\text{оп}}$ и $N_{\text{к}}$ – количество клеточных ядер, выделившихся из 1 мг ткани, в опытных сериях (тканевые культуры в присутствии исследуемого вещества) и в контрольной соответственно.

О наличии мембранотропной активности судили по превышению значения параметра M_a более чем на 125%. Каждый эксперимент проводили не менее 3-х раз. Полученные данные обрабатывали статистически (критерий Стьюдента).

Концентрацию белка в исследуемых фракциях определяли спектрофотометрически по методике Варбурга и Кристиана [1].

SDS-электрофорез в 12,5%-м ПААГ проводили на приборе для вертикального электрофореза по методу Лэммли. В качестве маркеров молекулярных весов использовали реактив фирмы «Sigma-Aldrich» (США): апротинин из легкого быка – 6500 Да, α -лактальбумин – 14200 Да, соевый ингибитор трипсина – 20000 Да, трипсиноген из поджелудочной железы быка – 24000 Да, карбоангидраза – 29000 Да, глицеральдегид – 3 – фосфатгидрогеназа – 36000 Да, овальбумин – 45000 Да, альбумин – 66000 Да. Окраску гелей проводили с помощью Кумасси G-250.

Обращенно-фазовую ВЭЖХ проводили с использованием хроматографа высокого давления фирмы «Agilent 1100 Series» (США) и колонки фирмы «Био-

химмак» С8-200 (4,6×150 мм) (Россия). В качестве элюента применяли 0,1%-й смесь трифторуксусная кислота – ацетонитрил, которую подавали на колонку в виде градиента ацетонитрила от 5% до 70% со скоростью элюции 1 мл/мин, 40 мин с 10-й мин. Детекцию белковых фракций осуществляли спектрофотометрически при 280 нм.

Масс-спектрометрический анализ осуществляли на MALDI-TOF масс-спектрометре «UltraFlex 2» фирмы «Bruker Daltonics» (Германия), оснащенном азотным лазером 337 нм и частотой импульса до 20 Гц. Все измерения проводили в линейном режиме, детектируя положительные ионы. Для накопления масс-спектров мощность лазерного излучения устанавливали на уровне минимального порогового значения, достаточного для десорбции-ионизации образца. Параметры масс-спектрометра оптимизировали для диапазона m/z от 1000 до 20000. Внешнюю калибровку проводили с использованием точных значений масс известных белков. Образец наносили на три ячейки планшета, для каждой из которых записывали спектр, полученный в результате суммирования 10 серий спектров по 50 импульсов лазера для каждой. Для записи, обработки и анализа масс-спектров использовали программное обеспечение фирмы «Bruker Daltonics» (Германия): flexControl 2.4 (Build 38) и flexAnalysis 2.4 (Build 11). Точность измерения масс составляла ± 2 Да.

Динамическое лазерное светорассеяние. Определение размеров частиц в исследуемых фракциях осуществляли методом лазерного динамического светорассеяния на приборе «Zetasizer Nano» фирмы «Malvern» (Англия). Фракции предварительно обеспыливали с помощью мембранного фильтра «Millipore» (США) с размером пор 0,22 мкм. Каждый эксперимент проводили не менее 3-х раз. Полученные данные обрабатывали с помощью программы «Zetasizer v.7.01».

Специфическую биологическую активность изучаемой фракции супернатанта определяли на модели стрептозототин-индуцированного экспериментального сахарного диабета у крыс Wistar *in vivo*. Животные содержались в условиях вивария Института биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН при свободном доступе к воде и пище.

Экспериментальный диабет у крыс Wistar in vivo. Животным обоего пола, весом 160–180 г, внутрибрюшинно вводили стрептозототин фирмы «SIGMA» (ХЧ, США) в виде раствора в 0,1 М фосфатном буфере (рН 6,5) в концентрации 30 мг/кг. Инъекции стрептозототина производили трижды с интервалом в 24 часа. Животных разделяли на четыре группы:

- *контроль № 1* ($n = 10$) – интактные животные;
- *контроль № 2* ($n = 15$) – крысы получали внутрибрюшинно по 0,1 мл физ. раствора в течение 14 дней;
- *контроль № 3* ($n = 15$) – крысы получали стрептозототин и ежедневно внутрибрюшинно по 0,1 мл физ. раствора течение 14 дней;
- *опыт № 1* ($n = 15$) – крысы получали стрептозототин и ежедневно внутрибрюшинно по 0,1 мл раствора фракции супернатанта, выделенной из экстракта поджелудочной железы, в дозе 10^{-14} мг белка в течение 14 дней.

Введение раствора супернатанта, а также физ. раствора проводили ежедневно, начиная с того же дня, что и введение стрептозототина. Концентрацию глюкозы в крови определяли с помощью глюкозооксидазного метода. Для этого после 12-часового

голодания внутрибрюшинно вводили раствор глюкозы в дозе 1 г/кг массы животного. После этого из хвостовой вены крыс брали пробы крови натощак, через 1 и 2 часа и определяли концентрацию глюкозы. Концентрацию инсулина в плазме крови определяли с помощью радиоиммунного метода, используя стандартные наборы. На 14-е сутки проведения эксперимента животных выводили из эксперимента (эфирный наркоз), удаляли поджелудочные железы и фиксировали их в 4%-м формалине. Парафиновые срезы поджелудочной железы приготавливали от 5 крыс каждой группы. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали с помощью световой микроскопии. Полученные в работе данные были статистически проанализированы с помощью критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Тканевой экстракт поджелудочной железы КРС, а также биологически активную пептидсодержащую фракцию получали согласно ранее разработанному экспериментальному подходу [4].

Данная фракция (супернатант, полученный после высаливания тканевого экстракта поджелудочной железы КРС) проявляла мембранотропную активность в дозе, соответствующей концентрации 10^{-15} мг/мл, причем вид зависимости значений параметра M_a от степени разбавления исходного препарата приближен к полимодальной (рис. 1), что является характерным признаком МГТБ [1]. Осадок, образовавшийся после высаливания тканевого экстракта, данный вид активности не проявлял и поэтому в данной работе исследован не был.

SDS-электрофорез в 12,5%-м ПААГ фракции супернатанта показал, что в данной фракции присутствуют низкомолекулярные компоненты (меньше 14200 Да). Полученные данные согласуются с результатами других исследований МГТБ, выделенных из различных тканей животных и растений [1, 3]. Методом MALDI-TOF масс-спектрометрии было доказано присутствие в исследуемой фракции пептидов молекулярной массы от 1331 и до 12282 Да. (табл. 1).

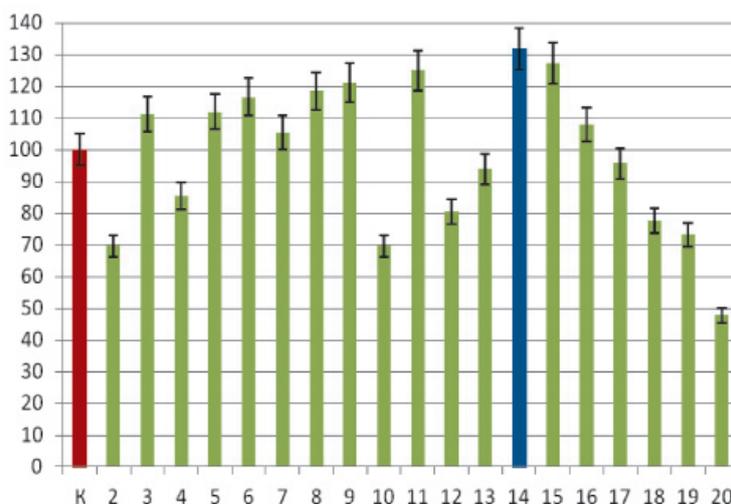


Рис. 1. Мембранотропная активность фракции супернатанта, выделенного из тканевого экстракта поджелудочной железы КРС. Исходная концентрация белка 0,1 мг/мл. По ординате – значение параметра M_a , отражающего мембранотропную активность в %; по абсциссе – степень последовательного 10-кратного разбавления препарата; К – контроль, принятый за 100%

Таблица 1

Характеристики фракции супернатанта и фракций ВЭЖХ, полученные с помощью MALDI TOF масс-спектрометрии, и их мембранотропная активность

Название фракции/время удерживания, мин	Молекулярная масса, Да	Проявление мембранотропной активности
Супернатант	1331, 1445, 1900, 2300, 2700, 5786, 6863, 10303, 11573, 12282	+
ВЭЖХ/5,6	1004, 1072, 1185, 1418, 1552, 1731, 1859, 2088, 2213, 2540, 2971	-
ВЭЖХ/8,4	1005, 1202, 1673, 1869, 2694	+
ВЭЖХ/27,2	1342, 1613, 2083, 2370, 2675	+

Методом динамического лазерного светорассеяния показано присутствие в растворе данной фракции наноразмерных частиц (около 200 нм). Ранее было установлено, что наноразмерное состояние МГТБ в водных растворах связано с их способностью проявлять биологическую активность в сверхмалых дозах [1, 3].

Обращенно-фазовой ВЭЖХ фракции супернатанта, выделенного из тканевого экстракта поджелудочной железы КРС, были получены 3 фракции со временем удерживания соответственно 5,6; 8,4 и 27,2 мин (рис. 2). Фракции 8,4 и 27,2 мин проявляли мембранотропную активность в сверхмалых дозах, характерную для МГТБ, фракция же с временем удерживания 5,6 такую активность не проявляла. MALDI-TOF масс-спектрометрией активных фракций было показано присутствие в них нескольких низкомолекулярных пептидов (табл. 1).

Таким образом, было показано, что во фракции супернатанта, выделенной из тканевого экстракта поджелудочной железы КРС, обнаруживаются вещества пептидной природы, имеющие МГТБ-подобные физико-химические свойства и проявляющие характерную для данной группы веществ мембранотропную активность.

На следующем этапе работы изучали специфическую биологическую активность данной пептидсодержащей фракции. Для этого была использована экспериментальная модель сахарного диабета у крыс *in vivo*. В качестве токсина использовался стрептозотцин [8]. Как показывают данные, приведенные в табл. 2, фракция супернатанта оказывала в сверхмалых дозах протекторное действие на поджелудочную железу крыс при экспериментальном стрептозотцин-индуцированном сахарном диабете *in vivo*: статистически достоверные отличия были обнаружены между показателями, полученными при исследовании крыс 3-й и 4-й групп ($p < 0,05$). Следует отметить, что у всех животных контрольной группы № 3 были обнаружены признаки глюкозурии, т.е. у всех животных этой группы развился диабет, причем две крысы пали во время проведения опыта. У животных опытной группы № 4 (воздействие стрептозотцина и фракции супернатанта) диабет развился только у 7 (при повторе у 8) из 15 животных. Обращает на себя внимание тот факт, что показатели содержания глюкозы у этих 7 (аналогично у 8 при повторе) животных группы № 4 имеют более низкие значения, а показатель содержания инсулина – более высокие по сравнению с контрольной группой № 3, хотя эти различия оказались статистически недостоверными ($p > 0,05$).

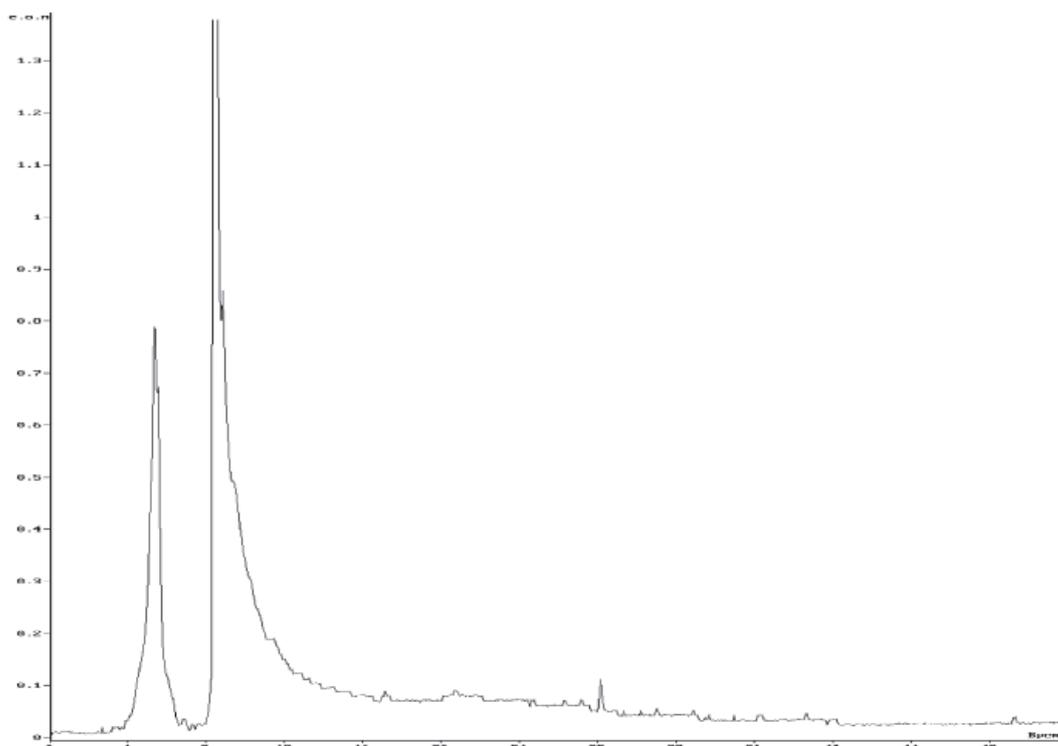


Рис. 2. Обращенно-фазовая ВЭЖХ фракции супернатанта, выделенного из тканевого экстракта поджелудочной железы КРС. По оси абсцисс – время элюции (мин); по оси ординат – поглощение при длине волны 280 нм

Таблица 2

Исследование протекторного действия изучаемой фракции на модели экспериментального сахарного диабета у крыс *in vivo*

№ п/п	Группа животных	Количество животных с признаками диабета	Содержание глюкозы в сыворотке крови (ммоль/л)			Содержание инсулина в сыворотке крови (мкЕД/л)
			0 час	1 час	2 час	
1	Контроль № 1 (n = 10)	0	4,2 ± 0,4	5,0 ± 1,2	4,6 ± 0,8	8,7 ± 0,9
2	Контроль № 2 (n = 15)	0	4,4 ± 0,5	5,7 ± 1,1	4,9 ± 0,7	9,2 ± 1,3
3	Контроль № 3 (n = 15)	13 (2 пали)	12,1 ± 2,3	16,9 ± 1,6	16,1 ± 1,4	3,3 ± 1,1
4	Опыт № 1 (n = 15)	7	6,5 ± 0,7	8,1 ± 0,8	6,7 ± 0,4	6,2 ± 1,3
		8	4,7 ± 1,3	5,9 ± 1,7	5,0 ± 1,5	8,9 ± 1,6

Результаты исследования гистологических срезов животных этих групп свидетельствуют о принципиальных различиях в состоянии ткани поджелудочной железы у крыс, получавших стрептозотцин и физ. раствор, и у животных, которые вместе со стрептозотцином получали инъекции раствора супернатанта в сверхмалых дозах. В контрольной группе № 3 в поджелудочной железе было отмечено развитие дистрофических признаков в значительной части β-клеток. Наблюдали деструкцию островков Лангерганса, особенно в центральной зоне. Кроме того, их размер и количество были явно меньшими, чем у интактных животных. Были также выявлены признаки воспаления: вокруг островков Лангерганса обнаруживались обширные инфильтраты лимфоцитов. Совершенно иную картину наблюдали у животных группы № 4, у которых отсутствовали признаки диабета. Не было обнаружено деструктивных изменений в ткани поджелудочной железы этих животных. Состояние островков Лангерганса, их размеры и число соответствовали таковым у крыс групп № 1 и 2. Признаки воспаления отсутствовали. Состояние поджелудочной железы по данным гистологического исследования 7 (при повторе у 8) крыс с признаками диабета группы № 4 было похоже на состояние ткани у крыс группы № 3. Полученные данные, как и данные исследований, полученных для МГТБ из других источников, показывают протекторное действие данной пептидсодержащей фракции МГТБ на ткань поджелудочной железы, которое заключается в процессах восстановления и репарации в патологически измененных тканях [2, 3].

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что, во-первых, в ткани поджелудочной железы крупного рогатого скота присутствуют биологически активные в сверхмалых дозах МГТБ; во-вторых, было продемонстрировано протекторное свойство пептидной компоненты данного МГТБ на модели экспериментального сахарного диабета у крыс *in vivo*. Последнее может служить доказательством отсутствия тканевой специфичности МГТБ, выделенного из тканевого экстракта поджелудочной железы, что является еще одним свойством, характерным для всей группы данных биорегуляторов.

Список литературы

1. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. // Справочник биохимика. – М.: Изд-во Мир, 1991. – С. 464–465.
2. Константиновский А.А., Краснов М.С., Ямскова В.П., Рыбакова Е.Ю., Ямскова И.А. Исследование ранозаживляющего действия биорегуляторов, выделенных из тканей глаза и сыворотки крови быка, на модели экспериментальной травмы роговицы у кроликов *in vivo* // БЭБМ. – 2012. – № 2. – С. 177–182.
3. Стречкий Г.М., Краснов М.С., Рыбакова Е.Ю., Авдеенко О.Е., Тихонов В.Е., Шайхалиев А.И., Ямскова В.П., Ямсков И.А. Исследование влияния композиции на основе хитозанового геля и биорегулятора сыворотки крови на заживление гнойных ран у мышей // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2011. – № 4. – С. 211–214.
4. Ямскова В.П., Краснов М.С., Ямсков И.А. Новые экспериментальные и теоретические аспекты в биорегуляции. Механизм действия мембранотропных гомеостатических тканеспецифических биорегуляторов // Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2012. – P. 136.
5. Ямскова В.П., Краснов М.С., Ямсков И.А. Наноразмерные биорегуляторы тканей глаза млекопитающих как основа для фармакологических препаратов нового поколения. – М.: Изд-во МАКС Пресс, 2009. – С. 19–50.
6. Ямскова В.П., Резникова М.М. Низкомолекулярный полипептид сыворотки крови теплокровных: влияние

на клеточную адгезию и пролиферацию // Журнал общей биологии. – 1991. – Т.52. – № 2. – С. 181–191.

7. Ямскова В.П., Скрипникова В.С., Молявка А.А., Ильина А.П., Краснов М.С., Маргасюк Д.В., Борисенко А.В., Березин Б.Б., Кузнецова Е.С., Буряк А.К., Ямсков И.А. Структурно-функциональные особенности нового биорегулятора, выделенного из ткани пигментного эпителия глаза быка // Биохимия. – 2009. – Т.74. – № 9. – С. 1195–1203.

8. Skyler J.S., Marks J.B. Immune intervention in type I diabetes mellitus // *Diabetes Rev.* – Vol. 1. – № 1. – 1993. – P. 15–42.

References

1. Dason R., Jelliot D., Jelliot U., Dzhons K. // *Spravochnik biohimika.* М.: Izd-vo Mir, 1991. pp. 464–465.

2. Konstantinovskij A.A., Krasnov M.S., Jamskova V.P., Rybakova E.Ju., Jamskova I.A. Issledovanie ranozazhivljajushhego dejstvija bioreguljatorov, vydelennyh iz tkanej glaza i syvorotki krovi byka, na modeli jeksperimental'noj travmy rogovicy u krolikov in vivo // *BJeBM.* 2012. no. 2. pp. 177–182.

3. Streckij G.M., Krasnov M.S., Rybakova E.Ju., Avdeenko O.E., Tihonov V.E., Shajhaliev A.I., Jamskova V.P., Jamskov I.A. Issledovanie vlijanija kompozicii na osnove hitozanovogo gelja i bioreguljatora syvorotki krovi na zazhivlenie gnojnyh ran u myshej // *Kletochnye tehnologii v biologii i medicine.* 2011. no. 4. pp. 211–214.

4. Jamskova V.P., Krasnov M.S., Jamskov I.A. Novye jeksperimental'nye i teoreticheskie aspekty v bioreguljacii. Mechanizm dejstvija membranotropnyh gomeostaticeskikh tkane-spezificheskikh bioreguljatorov // Saarbrucken: Lambert Academic Publishing, 2012. pp. 136.

5. Jamskova V.P., Krasnov M.S., Jamskov I.A. Nanorazmernye bioreguljatory tkanej glaza mlekopitajushchih kak osnova dlja farmakologicheskikh preparatov novogo pokolenija. М.: Izd-vo MAKS Press, 2009. pp. 19–50.

6. Jamskova V.P., Reznikova M.M. Nizkomolekuljarnyj polipeptid syvorotki krovi teplokrovnyh: vlijanie na kletochnuju adgeziju i proliferaciju // *Zhurnal obshhej biologii.* 1991. T.52. no. 2. pp. 181–191.

7. Jamskova V.P., Skripnikova V.S., Moljavka A.A., Il'ina A.P., Krasnov M.S., Margasjuk D.V., Borisenko A.V., Berезин B.B., Kuznecova E.S., Burjak A.K., Jamskov I.A. Strukturno-funkcional'nye osobennosti novogo bioreguljatora, vydelennogo iz tkani pigmentnogo jepitelija glaza byka // *Biohimija.* 2009. T.74. no. 9. pp. 1195–1203.

8. Skyler J.S., Marks J.B. Immune intervention in type I diabetes mellitus // *Diabetes Rev.* Vol. 1. no. 1. 1993. pp. 15–42.

Рецензенты:

Брага Э.А., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией патогеномики и транскриптомики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», г. Москва;

Шарова Н.П., д.б.н., заведующая лабораторией биохимии процессов онтогенеза, зам. директора, ФГБУ «Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова» РАН, г. Москва.

Работа поступила в редакцию 10.04.2015.