

УДК 57.033

## РЕГУЛИРОВАНИЕ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОСТИ ЛИЗОЦИМА КУРИНОГО ЯЙЦА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛКИЛОКСИБЕНЗОЛОВ

Е.И. Мартиросова<sup>1</sup>, И.Л. Журавлева<sup>1</sup>, И.Г. Плащина<sup>1</sup>, А.С. Петровский<sup>2</sup>,  
Н.Г. Лойко<sup>3</sup>, Г.И. Эль-Регистан<sup>3</sup>

*(<sup>1</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН; <sup>2</sup>Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева; <sup>3</sup>Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН; e-mail: ms\_martins@mail.ru)*

Продемонстрирована способность алкилоксибензолов изменять ферментативную активность лизоцима яичного белка и эффективность катализируемых им реакций гидролиза неспецифических (хитин, дрожжи) субстратов. В качестве модифицирующей добавки использован гомолог С<sub>7</sub>-АОБ, который во всем исследованном диапазоне концентраций повышал ферментативную активность лизоцима. Исследовано влияние концентрации С<sub>7</sub>-АОБ (0,125-4,0 мг/мл), формы С<sub>7</sub>-АОБ (исходной и окисленной), а также времени инкубирования смеси (1-24 часов) лизоцима и С<sub>7</sub>-АОБ в 0,05 М фосфатном буфере (рН 7,4) при 25°C на активность лизоцима и термодинамические параметры его денатурации методом дифференциальной сканирующей микрокалориметрии. Определены кинетические параметры гидролиза хитина лизоцимом, модифицированным С<sub>7</sub>-АОБ.

**Ключевые слова:** лизоцим, алкилоксибензолы, хитин, ферментативная активность, ферментативный гидролиз, термодинамические параметры, ДСК.

### Введение

Лизоцим широко применяют как в медицине при лечении инфекционных заболеваний, так и в пищевой промышленности – для предотвращения бактериальных заражений продуктов, поэтому проблема приобретения микроорганизмами устойчивости к лизоциму очень важна [1]. В последнее время возросло внимание к исследованиям, направленным на модификацию лизоцима, приводящую к изменению его характеристик при сохранении активности [2, 3].

Один из наиболее эффективных способов модификации ферментов – использование их слабых неспецифических взаимодействий с низкомолекулярными лигандами. К биологически активным веществам, способным оказывать влияние на активность и стабильность лизоцимов, относятся микробные низкомолекулярные внеклеточные метаболиты, имеющие функции аутоиндукторов анабиоза. Эти ауторегуляторы, представленные у ряда бактерий и дрожжей алкилоксибензолами (АОБ), в частности алкилрезорцинами, индуцируют переход микробных клеток в гипометаболическое (анабиотическое) состояние и реализуют эту функцию через взаимодействие с широким кругом биополимеров бактериальной клетки [4, 5]. Неспецифический эффект воздействия этих ауторегуляторов на ферментные белки определяется хими-

ческой структурой АОБ и типом их взаимодействий с молекулами белков [6, 7].

В случае лизоцима ранее было установлено существенное влияние на эффективность катализируемых им реакций модификации структуры как фермента, так и специфического (пептидогликана) и неспецифического (коллоидного хитина) субстратов в результате взаимодействия с С<sub>7</sub>-АОБ. Выявлено стабилизирующее действие С<sub>7</sub>-АОБ, которое проявлялось в сохранении более высокого уровня активности (по сравнению с контролем) модифицированного АОБ-фермента после его термической обработки, а также при неоптимальных температурах катализа [8]. Установлена корреляция между изменением каталитической активности лизоцима под действием С<sub>7</sub>-АОБ и его дестабилизирующим действием на нативную конформацию фермента, что проявляется в понижении избыточной свободной энергии денатурации с увеличением концентрации модификатора. Это свидетельствует о преимущественном взаимодействии С<sub>7</sub>-АОБ с денатурированной формой белка [9].

Понимание механизма регуляции активности и функциональной стабильности лизоцима с помощью АОБ представляет интерес для теории персистенции (особенно воздушно-капельных инфекций) и использо-

вания высокоактивного и стабильного лизоцима в медицинской практике. Модификация лизоцима для повышения его активности и стабильности может также быть востребована в производстве синергетических пребиотиков, применение которых является новым направлением в создании синбиотических продуктов [10].

Цель данной работы состояла в изучении влияния концентрации  $C_7$ -АОБ, его формы (исходной и окисленной), а также времени инкубирования смеси лизоцима и  $C_7$ -АОБ на активность лизоцима и термодинамические параметры его денатурации, а также в определении кинетических параметров гидролиза хитина лизоцимом, модифицированным  $C_7$ -АОБ.

### Материалы и методы

В исследованиях использовали коммерческий препарат лизоцима яичного белка КФ 3.2.1.17 (“Sigma”, США),  $M = 14,7$  кДа.

В качестве модификатора лизоцима использовали гомолог алкилоксибензолов  $C_7$ -АОБ (“Sigma”, США),  $M = 124$  г/моль. Окисленную форму  $C_7$ -АОБ получали выдерживанием концентрированного раствора на свету в присутствии кислорода воздуха при температуре  $25^\circ\text{C}$  в течение 14 дней.

Растворы фермента и  $C_7$ -АОБ готовили в PBS-буфере в концентрациях, в два раза больше заданных, смешивали в отношении 1:1 и выдерживали при комнатной температуре определенное время (предынкубация). В контрольных вариантах вместо раствора АОБ использовали эквивалентное количество растворителя.

### Приготовление субстратов

Клетки *Saccharomyces cerevisiae* культивировали на 2,5 Б сусле в течение 12 ч при  $28^\circ\text{C}$  (экспоненциальная фаза). Клетки, отделенные от среды роста, ресуспендировали в PBS-буфере pH 7,4 до оптической плотности 0,5 ед. (“Specord”, Германия,  $l = 1$  см,  $\lambda = 540$  нм), что соответствовало численности дрожжевых клеток  $\approx 5 \times 10^7$  КОЕ/мл.

Коллоидный хитин получали растворением кристаллического хитина в 85%-й фосфорной кислоте. Отмытый методом декантации в дистиллированной воде осадок отделяли центрифугированием и разбавляли до нужной концентрации буфером (pH субстрата 7,0).

### Определение ферментативной активности лизоцима

Гидролитическую активность лизоцима в отношении коллоидного хитина определяли, смешивая

0,3 мл раствора субстрата (15 мг/мл) с 0,1 мл раствора лизоцима (2 мг/мл) и инкубируя в течение 10 и более часов при  $42^\circ\text{C}$ .

Гидролитическую активность лизоцима в отношении клеток *S. cerevisiae* определяли, смешивая 2 мл дрожжевой суспензии с 0,5 мл раствора лизоцима (2 мг/мл) и инкубируя в течение 20 ч при  $37^\circ\text{C}$ . Затем образцы центрифугировали и в супернатанте определяли концентрацию ацетилглюкозамина с ДСК [11].

### Микрокалориметрические исследования

Исходные растворы лизоцима ( $\approx 10$  мг/мл) в 0,05 М фосфатном буфере с pH 7,4 готовили за 1 день до эксперимента. После центрифугирования растворов в течение 1 ч при 20 000 g (“Beckman 21”, Германия) определяли концентрацию лизоцима спектрофотометрическим методом (“Specord UV VIS”, Германия), измеряя поглощение при 280 нм. Для расчета концентрации лизоцима использовали коэффициент удельной экстинкции 26,4 [12]. Рабочие растворы готовили, смешивая равные объемы растворов белка и  $C_7$ -АОБ в 0,05 М PBS-буфере. Концентрация  $C_7$ -АОБ составляла 4,6 мг/мл,  $r = 50$  ( $r$  – молярное отношение  $C_7$ -АОБ/лизоцим). Полученные растворы выдерживали при комнатной температуре в течение 1 ч перед введением в рабочую ячейку калориметра. В качестве растворов сравнения использовали свежеприготовленные растворы  $C_7$ -АОБ той же концентрации, что и в рабочей ячейке.

Эксперименты по микрокалориметрии выполнены с использованием адиабатного сканирующего микрокалориметра “ДАСМ-4” (НПО “Биоприбор”, г. Пушкино, Россия) в температурном диапазоне 10–110°C при скорости сканирования 2 град/мин и избыточном давлении 0,2 МПа. В каждом эксперименте шкалу теплоемкости микрокалориметра калибровали на основе эффекта Джоуля–Ленца.

Калориметрическая энтальпия денатурации рассчитана как площадь под термограммой с учетом изменения теплоемкости между нативной и денатурированной формами белка [13] с использованием стандартной программы Wscal.

### Результаты и обсуждение

В работе исследовали влияние одного из гомологов алкилоксибензолов ( $C_7$ -АОБ) на ферментативную активность лизоцима яичного белка в отношении неспецифического субстрата – коллоидного хитина (pH реакции 7,0). Поскольку для модификации структуры

макромолекул необходимо определенное время [14], то были проведены исследования, в которых варьировали время инкубирования лизоцима и  $C_7$ -АОБ в диапазоне от 1 до 24 ч при температуре 25°C. Предынкубация лизоцима с  $C_7$ -АОБ в течение 1 ч во всем диапазоне исследуемых концентраций (0,125–4 мг/мл или  $r = 6$ –200) стимулировала каталитическую активность фермента, что выражалось в увеличении накопления продукта ацетилглюкозамина до 150% от контроля (рис. 1). Следует отметить, что в области низких концентраций (0,125 мг/мл) наблюдался максимум активности. Увеличение времени предынкубации до 24 ч повышало эффективность воздействия  $C_7$ -АОБ на фермент до максимального значения – 300% от контроля.

Рост неспецифической активности лизоцима, модифицированного  $C_7$ -АОБ, продемонстрирован в опытах, где в качестве субстрата использовали дрожжевые клетки *S. cerevisiae*. Максимальный выход редуцирующих сахаров наблюдался при концентрации модификатора 1,75 мг/мл, что коррелировало с данными по хитину (рис. 2). Дальнейшее увеличение концентрации модификатора в обоих случаях приводило к спаду/фиксации активирующего эффекта. Таким образом, представленные в работе результаты демонстрируют способность  $C_7$ -АОБ изменять субстратную специфичность, повышая активность лизоцима в отношении неспецифических субстратов, т.е. увеличивать скорость гидролиза связей, неспецифических для данного фермента.

Получение лизоцимов, активных против дрожжевых клеток, представляет практический интерес. В литературе подобный эффект обнаружить не удалось. Имеются отдельные работы, в которых рассматривается увеличение активности лизоцима в отношении дрожжей после их предварительной обработки антимикотиками (нистатин, амфотерицин В) [15]. Остальные примеры модификации лизоцимов приводят к получению ферментов, активных в отношении большого числа грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Стимуляция каталитической активности стабилизированного  $C_7$ -АОБ лизоцима предполагала соответствующие изменения основных кинетических параметров реакции гидролиза (константы Михаэлиса,  $K_M$  и максимальной скорости реакции гидролиза,  $V_{\max}$ ), позволяющих интерпретировать взаимодействия фермента с модификатором [16]. В работе определены кинетические параметры гидролиза хитина лизоцимом, модифицированным  $C_7$ -АОБ, в диапазоне акти-

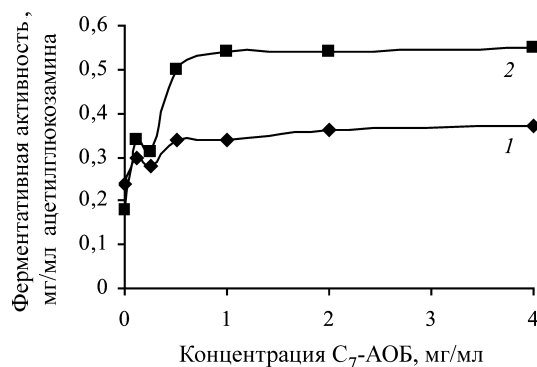


Рис. 1. Концентрационная зависимость действия  $C_7$ -АОБ на ферментативную активность лизоцима при гидролизе коллоидного хитина. Условия реакции: концентрация субстрата 28 мг/мл; pH 7,0; время 10 ч; температура 42°C. Время предынкубации фермента с  $C_7$ -АОБ, ч: 1 – 1, 2 – 24

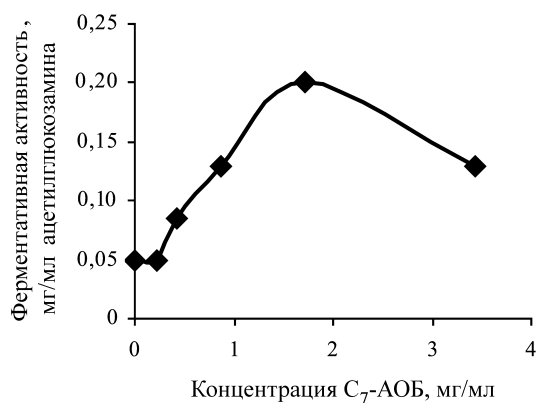


Рис. 2. Концентрационная зависимость действия  $C_7$ -АОБ на ферментативную активность лизоцима в отношении клеток дрожжей в варианте предынкубации фермента. Температура ферментативной реакции 37°C, время 20 ч, время предынкубации фермента с  $C_7$ -АОБ 1 ч

вирующих концентраций (0,125–4 мг/мл). В экспериментах использовали разные концентрации коллоидного хитина (14–28 мг/мл) при стандартной концентрации лизоцима 2 мг/мл. Полученные результаты были проанализированы графически в координатах Лайнуивера–Берка для расчета значений  $K_M$  и  $V_{\max}$  (рис. 3, табл. 1).

При использовании высоких концентраций  $C_7$ -АОБ (2 и 4 мг/мл) увеличивается значение  $V_{\max}$ , но не изменяется значение  $K_M$ , что характерно для неконкурентного типа активации. Зависимости, построенные для вариантов концентраций  $C_7$ -АОБ 0,125, 0,5, 1 мг/мл, имели одинаковое значение  $K_M$ , в 3,5 раза превышающее контрольное, при этом величина  $V_{\max}$  изменялась пропорционально  $K_M$ , что характерно для неконкурентного типа активации. Таким образом, можно предположить, что эффекты  $C_7$ -АОБ в отно-

Т а б л и ц а 1

**Влияние С<sub>7</sub>-АОБ на изменение кинетических параметров лизоцима в реакции гидролиза коллоидного хитина**

Концентрация С <sub>7</sub> -АОБ, мг/мл	Контроль	0,125	0,5	1	2	4
$K_m$ , мг/мл	38,0	135,7	135,7	135,7	38,0	38,0
$V_{\text{макс}}$ , мг/мл <sub>продукта</sub> ·ч	0,056	0,18	0,19	0,20	0,09	0,12

шении лизоцима характерны для действия активаторов неконкурентного типа. Полученные данные по действию АОБ на кинетические параметры реакции гидролиза с участием лизоцима подтверждаются и для других модельных ферментов (трипсина,  $\beta$ -амилазы), модификация которых С<sub>7</sub>-АОБ приводила к неконкурентной активации [7, 17].

Известно, что многие фенольные соединения, к классу которых относятся АОБ, обладают антиоксидантными свойствами. Фенолы и их производные легко окисляются в присутствии кислорода воздуха с образованием активных промежуточных соединений, причем некоторые из них обладают более выраженными антиокислительными свойствами, чем исходные молекулы.

Согласно ранее проведенным исследованиям водных растворов С<sub>7</sub>-АОБ с использованием методов импульсного радиолиза и высокоэффективной жидкостной хроматографии, было доказано образование низкомолекулярных и длинноцепочечных продуктов окисления в окислительно-восстановительных реакциях, инициированных ионизирующим излучением [18].

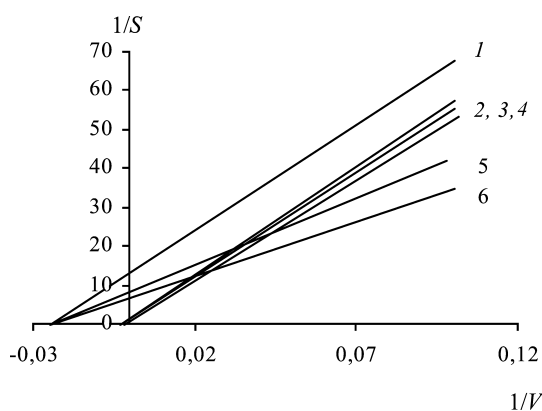


Рис. 3. Зависимости между концентрацией субстрата – коллоидного хитина ( $S$ ), и скоростью ( $V$ ) его гидролиза лизоцимом, модифицированным С<sub>7</sub>-АОБ в концентрациях (мг/мл): 1 – контроль; 2 – 0,125; 3 – 0,5; 4 – 1; 5 – 2; 6 – 4

Отмечалось, что зарегистрированные продукты окисления С<sub>7</sub>-АОБ близки к так называемым красным формам, которые детектированы в спектрах продуктов окисления природных полифенольных соединений. В работе [18] упомянуто, что антоцианы, имеющие в своей структуре пирилиевое кольцо и поглощение в области 450–600 нм, обладают более высокой антирадикальной и радиопротекторной активностью по сравнению с флавонолами. Все выше сказанное позволяет нам сделать вывод, что наблюдаемое нами развитие красной окраски хранившихся на свету при  $T = 25^\circ\text{C}$  в течение 15 сут концентрированных растворов С<sub>7</sub>-АОБ, имеющих максимум поглощения при длине волны 500 нм, свидетельствует об окислительном превращении С<sub>7</sub>-АОБ с образованием красных форм.

В работе были проведены исследования по влиянию окисленной формы С<sub>7</sub>-АОБ на активность лизоцима в реакции гидролиза коллоидного хитина (время предынкубации 1 ч). Модификация лизоцима окисленной формой С<sub>7</sub>-АОБ также, как и интактной формой, приводила к повышению выхода продуктов реакции (рис. 4).

Максимальное значение прироста активности в данном случае практически совпадает со значением, полученным для неокисленной формы модификатора при одном и том же времени инкубации (до 160% от контроля при концентрации модификатора 0,5 мг/мл). Более эффективным воздействием при этом обладают низкие концентрации лиганда, а с повышением концентрации модификатора выход продукта реакции снижается.

Известно, что взаимодействие белков с лигандами обычно приводит к изменению их термостабильности, поскольку происходит наложение равновесий конформационного перехода и связывания лиганда [19]. Изменение стабильности белка, вызванное взаимодействием с лигандом, коррелирует с изменением подвижности молекул [20] и, следовательно, с ее функционированием. Влияние степени окисления

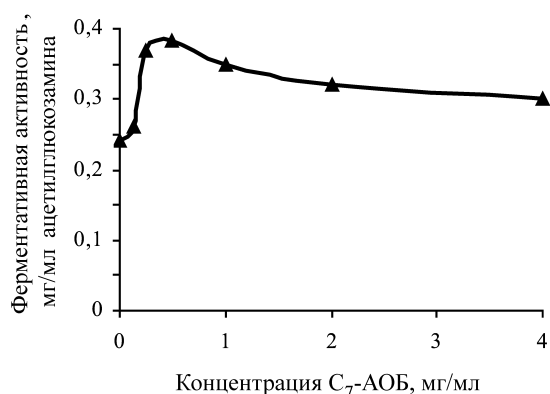


Рис. 4. Концентрационная зависимость действия окисленной формы C<sub>7</sub>-АОБ на ферментативную активность лизоцима при гидролизе коллоидного хитина. Условия реакции: концентрация субстрата 28 мг/мл; pH 7,0; время 10 ч; T = 42°C, время предынкубации фермента с C<sub>7</sub>-АОБ 1 ч

C<sub>7</sub>-АОБ (r = 50) на конформационную термостабильность макромолекулы лизоцима в 0,05 М фосфатном буфере (pH 7,4) исследовали методом дифференциальной адиабатной сканирующей микрокалориметрии. Полученные данные представлены в табл. 2.

В данном эксперименте сохраняется установленная ранее корреляция между понижением температуры денатурации (T<sub>д</sub>) и присутствием C<sub>7</sub>-АОБ в сравнении с интактным ферментом [9]. Известно, что понижение температуры денатурации белка в присутствии лиганда в первую очередь свидетельствует о предпочтительном взаимодействии последнего с денатурированной формой белка [21]. В нашем случае уменьшение T<sub>д</sub> в присутствии C<sub>7</sub>-АОБ указывает на

уменьшение термостабильности лизоцима. Существенное отличие системы, содержащей окисленную форму C<sub>7</sub>-АОБ, от неокисленной проявляется в 1,5-кратном увеличении ΔC<sub>p</sub> (разница теплоемкости лизоцима в денатурированном и нативном состояниях). Представленные результаты указывают на повышение доступной для растворителя гидрофобной поверхности молекулы лизоцима вследствие взаимодействия с C<sub>7</sub>-АОБ.

### Заключение

Проведенные исследования свидетельствуют о способности C<sub>7</sub>-АОБ (химического аналога одного из гомологов аутоиндукторов анабиоза бактерий) модифицировать функциональную активность лизоцима яичного белка и регулировать эффективность катализируемых им реакций гидролиза неспецифических субстратов. Показано, что эффективность модификации лизоцима зависит от концентрации C<sub>7</sub>-АОБ и от времени инкубирования их совместных растворов. Полученные результаты в значительной степени согласуются с эффектами, продемонстрированными в отношении действия АОБ на другие моносубъединичные ферменты (трипсин, α-, β- и глюкоамилаза, рибонуклеаза и др.), и подтверждают способность АОБ к модификации ферментных белков неспецифически к их структуре [5–7]. Показано, что изменение активности лизоцима в комплексе с C<sub>7</sub>-АОБ обусловлено изменением его конформационной стабильности и термодинамического сродства к растворителю и проявляется в увеличении скорости ферментативного гидролиза субстрата.

Таблица 2

Зависимость изменения термодинамических параметров денатурации модифицированного лизоцима от формы C<sub>7</sub>-АОБ

Термодинамические характеристики	Интактный лизоцим	Форма модификатора	
		исходная	окисленная
Δ <sub>д</sub> H <sub>Сал</sub> , кДж/моль*	476	502	460
ΔC <sub>p</sub> , кДж/(моль·К)	2,63	7,59	12,56
T <sub>макс</sub> , °С	74,4	73,5	73,2

\*Калориметрическая энтальпия денатурации.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Deckers D., Masschalck B., Aertsen A., Callewaert L., van Tiggelen C.G., Atanassova M., Michiels C.W. // Cell Mol. Life Sci. 2004. **61**. P. 1229.  
 2. Radwan I.H., Mamoru Y., Kazunobu M., Kunihiro K., Akio K. // J. Biol. Chem. 1994. **269**. P. 5059.

3. Lesnierowski G., Cegielska-Radziejewska R., Kijowski J. // World's Poultry Sci. J. 2004. **60**. P. 303.
4. Эль-Регистан Г.И., Мулюкин А.Л., Николаев Ю.А., Сузина Н.Е., Гальченко В.Ф., Дуда В.И. // Микробиология. 2006. **75**. С. 446.
5. El-Registan G.I. Mulyukin A.L., Nikolaev Yu.A., Stepanenko I.Yu., Kozlova A.N., Martirosova E.I., Shanenko E.F., Strakhovskaya M.G., Revina A.A. // J. Adv. Space Res. 2005. **36**. P. 1718.
6. Мартиросова Е.И., Карпекина Т.А., Эль-Регистан Г.И. // Микробиология. 2004. **73**. С. 708.
7. Николаев Ю.А., Лойко Н.Г., Степаненко И.Ю., Шаненко Е.Ф., Мартиросова Е.И., Плакунов В.К., Козлова А.Н., Борзенков И.А., Коротина О.А., Родин Д.С., Крупянский Ю.Ф., Эль-Регистан Г.И. // Прикладная биохимия и микробиология. 2008. **44**. С. 159.
8. Петровский А.С., Дерябин Д.Г., Лойко Н.Г., Михайленко Н.А., Кобзева Т.Г., Канаев П.А., Николаев Ю.А., Крупянский Ю.Ф., Козлова А.Н., Эль-Регистан Г.И. // Микробиология. 2009. **78**. С. 146.
9. Plashchina I.G., Zhuravleva I.L., Martirosova E.I., Petrovskii A.S., Loiko N.G., Nikolaev Yu.A., El'-Registan G.I. // Biotechnology, Biodegradation, Water and Foodstuffs. N.Y., 2009. P. 45.
10. Евдокимов И.А. // Молочная промышленность. 2004. **4**. С. 41.
11. Miller G.L. // Anal. Chem. 1959. **31**. P. 426.
12. Page C.N., Vajdos F., Fee L., Grimsley G., Gray Th. // Prot. Sci. 1995. **4**. P. 2411.
13. Privalov P.L., Potekhin S.A. // Methods in Enzymology. 1986. **131**. P. 4.
14. Беспалов М.М., Колпаков А.И., Лойко Н.Г., Дорошенко Е.В., Мулюкин А.Л., Козлова А.Н., Варламова Е.А., Курганов Б.И., Эль-Регистан Г.И. // Микробиология. 2000. **69**. С. 217.
15. Anil S., Samaranyakk L.P. // Oral Dis. 2002. **8**. P. 199.
16. Плакунов В.К. // Основы энзимологии. М., 2001.
17. Мартиросова Е.И. Дис. ... канд. биол. наук. М., 2007.
18. Ревина А.А., Ларионов О.Г., Кочетова М.В., Зимина Г.М., Золотаревский В.И., Эль-Регистан Г.И. // Химия высоких энергий. 2004. **38**. С. 176.
19. Notans S.W. // Top Curr. Chem. 2007. **272**. P. 51.
20. Celej M.S., Montich G.G., Fidelio G.D. // Prot. Sci. 2003. **12**. P. 1496.
21. Cooper A. // Differential scanning microcalorimetry/ S.E.Harding and B.Z. Chowdhry (Eds.) Oxford; N.Y., 2000. P. 287.

Поступила в редакцию 20.01.10

## CONTROLLING OF THE CATALYTIC ACTIVITY AND FUNCTIONALITY OF HEN EGG WHITE LYSOZYME BY ALKYLHYDROXYBENZENES

E.I. Martirosova, I.L. Zhuravleva, I.G. Plashchina, A.S. Petrovskii, N.G. Loiko, G.I. El-Registan

(Emanuel Institute of Biochemical Physics, RAS; Mendeleev University of Chemical Technology; Winogradsky Institute of Microbiology, RAS; e-mail: ms\_martins@mail.ru)

The study demonstrates the ability of alkylhydroxybenzenes ( $C_7$ -AHB homolog) to stimulate the enzymatic activity of hen egg white lysozyme and the efficiency of hydrolysis reactions of non-specific substrates. The influence of both the  $C_7$ -AHB concentration and the  $C_7$ -AHB form (primary and oxidized), as well as the incubation time of the mixture of lysozyme and  $C_7$ -AHB on the activity of lysozyme and thermodynamic parameters of its denaturation has been studied using DSC. Kinetic parameters of chitin hydrolysis by  $C_7$ -AHB-modified lysozyme have been estimated.

**Key words:** lysozyme, alkylhydroxybenzenes, chitin, enzymatic activity, enzymatic hydrolysis, thermodynamic parameters, DSC.

**Сведения об авторах:** Мартиросова Елена Игоревна – науч. сотр. лаборатории физико-химической модификации биополимеров ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, канд. биол. наук (ms\_martins@mail.ru); Журавлева Ирина Леонидовна – ст. науч. сотр. лаборатории физико-химической модификации биополимеров ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, канд. хим. наук (igplashchina@sky.chph.ras.ru); Плащина Ирина Германовна – заведующая лабораторией физико-химической модификации биополимеров ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, канд. хим. наук (igplashchina@sky.chph.ras.ru); Петровский Арсений Сергеевич – аспирант кафедры биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева (arseniyy@mail.ru); Лойко Наталья Геннадиевна – науч. сотр. лаборатории классификации и хранения уникальных микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, канд. биол. наук (loikonat@mail.ru); Эль-Регистан Галина Ивановна – глав. науч. сотр. лаборатории классификации и хранения уникальных микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, профессор, докт. биол. наук (loikonat@mail.ru).