



УДК 579.575

**Газохроматографическое изучение состава  
экзополисахаридов и их роли в защите  
от оксидативного стресса у микроаэрофильных  
бактерий «*Thioflexothrix psekupsii*»  
D3 gen. nov., sp. nov.**

Орлова М.В.<sup>1</sup>, Федоненко Ю.П.<sup>2</sup>, Евстигнеева С.С.<sup>2</sup>,  
Белоусова Е.В.<sup>1</sup>, Грабович М.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов  
Российской академии наук», Саратов

Поступила в редакцию 15.07.2015 г.

Методом газожидкостной хроматографии проведен анализ состава экзополисахаридов «*T. psekupsii*». Для «*T. psekupsii*» показан ферментативный способ защиты от АФК – синтез экзополисахаридов (ЭПС), которые способствуют снижению диффузии кислорода в клетки. Выявлена корреляция между концентрацией кислорода в среде культивирования «*T. psekupsii*» и концентрацией ЭПС: с уменьшением концентрации кислорода снижается концентрация ЭПС. Установлено, что на синтез ЭПС «*T. psekupsii*» затрачивается в 10 раз больше углерода, чем на синтез белка, что подчеркивает важность ЭПС для данной бактерии.

**Ключевые слова:** экзополисахариды (ЭПС), газо-жидкостная хроматография (ГЖХ), *Thioflexothrix psekupsii*

**Gas chromatographic study of exopolysaccharides  
composition and their role in the protection against  
oxidative stress in microaerophilic bacterium  
«*Thioflexothrix psekupsii*» D3 gen. nov., sp. nov.**

Orlova M.V.<sup>1</sup>, Fedonenko J.P.<sup>2</sup>, Yevstigneyeva S.S.<sup>2</sup>,  
Belousova E.V.<sup>1</sup>, Grabovich M.Y.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Voronezh State University, Voronezh

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms RAS, Saratov

The aim of this work was to study the composition of exopolysaccharides at the new representative of colorless sulfur bacteria «*T. psekupsii*», and to prove their participation in the antioxidant protection.

The composition of «*T. psekupsii*» exopolysaccharides was analyzed by GLC. It was established that the main component of «*T. psekupsii*» EPS was galactose and firmly bound to the cell wall EPS fraction was presented by high molecular galactose homopolymer. Chromatographic data were confirmed by genome sequencie, which revealed the presence of genes that determine the enzymes involved into the synthesis of galactose and galactan: galE, encoding UDP-glucose 4-epimerase (EC 5.1.3.2), glF, encoding UDP-galactopyranose mutase (EC 5.4.99.9).

EPS concentration was determined by the phenol method at different oxygen concentrations to prove its role in the antioxidant protection. The correlation between O<sub>2</sub> concentration in the cultural medium

and EPS concentration was revealed. With the decreasing of O<sub>2</sub> concentration the concentration of EPS decreases too. It is shown that «*T. pseukupsi*» spends ten times more carbon for EPS synthesis than for protein synthesis, which indicates the importance of EPS for this bacterium.

These data demonstrate that «*T. pseukupsi*» EPS are presented by the galactose polymer, which is involved into the cell protecting from the damaging effects of oxygen.

**Keywords:** exopolysaccharides (EPS), gas-liquid chromatography, *Thioflexothrix pseukupsi*.

## Введение

Представители бесцветных серобактерий обитают в водоемах разного типа - пресных, морских, в районах океанических гидротерм и в антропогенных экосистемах. Они занимают водные экологические ниши, где устанавливаются динамические градиенты молекулярного кислорода и сероводорода. «*Thioflexothrix pseukupsi*» представляет новый род и вид в семействе *Beggiatoaceae*. Представители данного семейства являются микроаэробами, т.е. не способны расти при высоких концентрациях кислорода. В природных биотопах микроаэробные условия создаются за счет постоянного подтока сероводорода, что приводит к снижению окислительно-восстановительного потенциала.

Многие представители бесцветных серобактерий (*Thiovulum*, *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Thiothrix*, *Beggiatoa*, «*Thiodendron*») имеют полисахаридный чехол. Наличие полисахаридного чехла часто рассматривают как стратегию микроаэрофильных или аэротолерантных бактерий для стабилизации физико-химических условий в микроне их развития [1; 2; 3]. Наличие подобного чехла снижает скорость диффузии кислорода в клетки, тем самым играет роль неферментативного способа защиты от оксидативного стресса. Количество внеклеточных полисахаридов может во много раз превышать биомассу клеток [4].

В последнее время микробные полисахариды получили широкое практическое применение в фармацевтике, в пищевой промышленности. Бактериальные ЭПС, в отличие от большинства химически синтезированных, являются биodeградируемыми и не наносят вреда окружающей среде [5], а возросший интерес к экологически чистым технологиям стимулирует спрос на природные ЭПС. Знание первичной структуры полисахаридов является основополагающим для понимания их свойств и для изготовления полимеров с требуемыми характеристиками, что активно эксплуатируется для промышленно используемых полисахаридов.

Целью данной работы было изучение структуры и роли экзополисахаридов в защите от оксидативного стресса у микроаэрофильных бактерий «*Thioflexothrix pseukupsi*».

## Эксперимент

Объектом исследования служили бесцветные нитчатые серобактерии семейства *Beggiatoaceae* - *Thioflexothrix pseukupsi* gen. nov., sp. nov., штамм D3. Для культивирования бактерий использовали среду следующего состава (мг/л): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-500, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-150, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-75, CaCl<sub>2</sub>-50, MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O-100, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-1500, вода дистиллированная – 1 л; NaHCO<sub>3</sub> -500; agar-500. В среду перед посевом вносили набор витаминов и микроэлементов [6]. pH среды перед посевом доводили до 7.2-7.5. Для культивирования использовали метод создания градиентных сред. В качестве нижнего слоя использовали столбик агара в концентрации 15 г/л,

содержащий  $\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$  (600 мг/л); в качестве верхнего слоя среду вышеописанного состава. Инкубировали при температуре 29°C.

Микроаэробные условия создавали путем продувания аргона через горячую среду культивирования во флаконах, которые закрывались специальными резиновыми прокладками с накручивающимися металлическими крышками. После продувания аргоном во флаконы вводили необходимый объем воздуха через бактериальные ультрафильтры (Millipore, 0.2 мкм) в определенных соотношениях. Углеводы определяли фенольным методом, фотометрировали при  $\lambda$ -488 нм [7]. Определение общего белка проводили по методу Лоури [8].

Секвенирование генома «*T. psekupsii*» проводили с помощью метода одномолекулярного секвенирования в реальном времени Pacific Biosciences (<http://www.pacificbiosciences.com/products/smrt-technology/>). Геномный сиквенс анализировали при помощи интернет-ресурса RAST (<http://rast.nmpdr.org>).

Выделение ЭПС и клеточной стенки «*T. psekupsii*». Биомассу «*T. psekupsii*» ресуспендировали в десятикратном объеме фосфатно-солевого буфера (ФСБ) (рН 6.8), следующего состава (г/л):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ –3.39;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ –3.53;  $\text{NaCl}$ –8.0. Суспензию клеток перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 мин, клетки осаждали центрифугированием при 3000×g 30 мин. Надосадочную жидкость отбирали, а осадок клеток вновь ресуспендировали в свежей порции буфера и процедуру повторяли. Объединенные фракции супернатантов, содержащие ЭПС, концентрировали при 40°C на роторном вакуумном испарителе Laborota 4000 (Heidolph, Германия) до объема 5 мл, диализовали против дистиллированной воды 48 ч, вновь концентрировали и лиофилизировали Benchtop 2K (Virtis, США).

Отмытые от ЭПС бактериальные клетки ресуспендировали в ФСБ, содержащим 2% Тритон X-100. Суспензию бактерий выдерживали 5 минут на ледяной бане в ультразвуковом дезинтеграторе UD-20 (Techpan, Польша), а затем центрифугировали при 18000 × g 30 мин. Осадок дважды экстрагировали 2% раствором SDS в фосфатном буфере при 80 °C для удаления ассоциированных с ПС белков, последовательно многократно промывали водой, 80% ацетоном, ацетоном и лиофилизировали. В составе клеточной стенки анализировали нейтральные сахара.

Экстракция ассоциированных с клеточной стенкой гликополимеров. Гликополимеры, ассоциированные с клеточной стенкой, выделяли ЭДТА содержащим буфером, как описано в работе [9]. Белковые компоненты из экстракта удаляли обработкой протеиназой К. Также из клеточных стенок *T. psekupsii* горячим водным фенолом получали липополисахарид [10]. 20 мг клеточных стенок ресуспендировали в 1.5 мл 45% водного фенола. Экстракцию вели при 68°C в течение 40 мин. Реакционную смесь охлаждали, диализовали против дистиллированной воды, осаждали из нее 40% ТХУ и центрифугированием при 15000 ×g белки, вновь диализовали и лиофилизировали.

Электрофорез полученных препаратов проводили в полиакриламидном геле с SDS при токе 0.04 А в течение 2 ч. Концентрирующий гель содержал 6% акриламида, разделяющий – 15%. Перед нанесением в лунки образцы кипятили при 100 °C в течение 10 мин. Визуализацию ПС осуществляли окрашиванием гелей красителем на основе азотнокислого серебра, как описано Тсай и Фреш [11].

Определение нейтральных моносахаридов в составе ЭПС осуществляли методом ГЖХ ацетатов полиолов [12] на хроматографе GC-2010 (Shimadzu, Япония), снабженным капиллярной колонкой DB-5 (Hewlett-Packard, США), в градиенте температур от 160°C (1 мин) до 29 °C со скоростью нагрева 7°C/мин. Относительное содержание сахаров было представлено как соотношение площадей пиков по показаниям детектора прибора.

Абсолютную конфигурацию нейтральных сахаров устанавливали методом ГЖХ в виде ацелированных гликозидов с (R)-2-октанолом [13] при условиях, описанных в предыдущем разделе.

Аналитические измерения для каждой пробы осуществляли три повторения при проведении не менее трех независимых экспериментов. Обсуждаются статистически достоверные различия при  $p < 0.05$  [14].

## Обсуждение результатов

«*T. psekupsii*» D3 gen. nov., sp. nov. является микроаэрофилом. В присутствии кислорода высокой концентрации происходит угнетение роста. При культивировании «*T. psekupsii*» в лабораторных условиях вокруг филаментов наблюдалось образование явно визуализированного слоя экстраклеточной субстанции, предположительно полисахаридного происхождения (рис. 1).

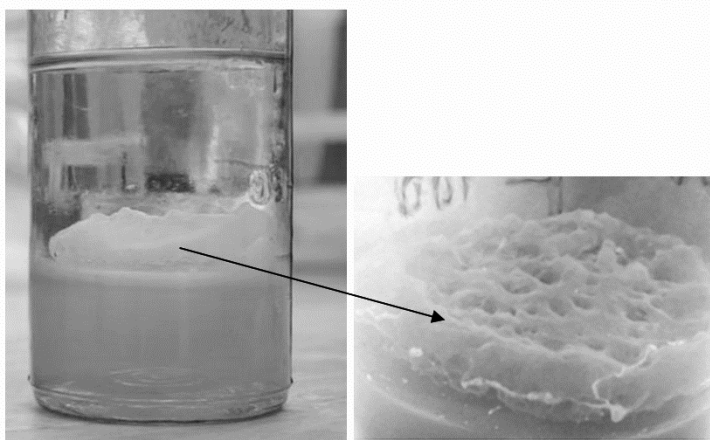


Рис. 1. Рост бактерии «*Thioflexothrix psekupsii*», образование ЭПС

Вероятно, ЭПС могут служить одним из механизмов защиты от оксидативного стресса, поскольку слизистые образования, как известно, создают условия, которые снижают скорость диффузии кислорода в клетки.

Для доказательства этого предположения мы измерили количество синтезируемых у «*T. psekupsii*» экзополисахаридов и белка при разных концентрациях кислорода (табл. 1, рис. 2).

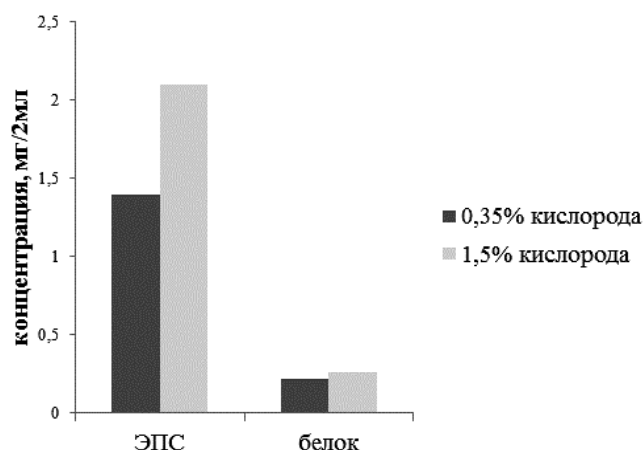


Рис. 2. Изменение количества ЭПС и белка при увеличении концентрации кислорода у «*T. psekupsii*»

Таблица 1. Использование углерода CO<sub>2</sub> на синтез ЭПС и белка «*T. pseudotuberculosis*» при разных концентрациях кислорода (n = 3, p ≤ 0,05)

Концентрация O <sub>2</sub> , %	C <sub>ЭПС</sub> , мг/2мл	C <sub>белка</sub> , мг/2мл	C <sub>белка</sub> : C <sub>ЭПС</sub>	% C <sub>CO2</sub> , пошедшего на синтез белка	% C <sub>CO2</sub> , пошедшего на синтез C <sub>ЭПС</sub>
0.35	1.4± 0.07	0.215± 0.01	1:6	3.1± 0.16	19.7± 0.99
1.5	2.1± 0.1	0.26± 0.01	1:8	3.7± 0.19	29.6± 1.48

Было установлено, что количество углерода CO<sub>2</sub>, идущее на синтез белка, почти не зависит от концентрации кислорода и составляет около 3% от внесенного углерода CO<sub>2</sub>. Количество углерода CO<sub>2</sub>, идущее на синтез полисахаридов, уменьшается почти на 10% с уменьшением концентрации кислорода и составляет от 20 до 30% от внесенного углерода CO<sub>2</sub>. Таким образом, следует, что на синтез экзополисахаридов «*T. pseudotuberculosis*» тратит почти в 10 раз больше углерода, чем на синтез белка. Это свидетельствует о важности полисахаридов для жизнедеятельности «*T. pseudotuberculosis*». Увеличение затрат углерода на синтез полисахаридов по мере возрастания концентрации кислорода указывает на то, что полисахариды действительно служат для защиты от кислорода.

Известно, что ЭПС бактерий характеризуются различной прочностью связывания с клеточной стенкой микроорганизмов [15]. Мы использовали поэтапное выделение всех возможных фракций ЭПС. Сначала механическим перемешиванием суспензии клеток в 0.15 М NaCl была получена легкоотделяемая от клеточной стенки фракция (ЭПС1), а для получения прочносвязанной фракции (ЭПС2) мы воспользовались методом экстракции гликополимеров поверхности бактерий буфером, содержащим ЭДТАNa. Моносахаридный состав полученных препаратов ЭПС определяли методом ГЖХ. В результате анализа в составе ЭПС1 были идентифицированы рамноза (Rha), манноза (Man), глюкоза (Glc) и галактоза (Gal) (рис. 3а).

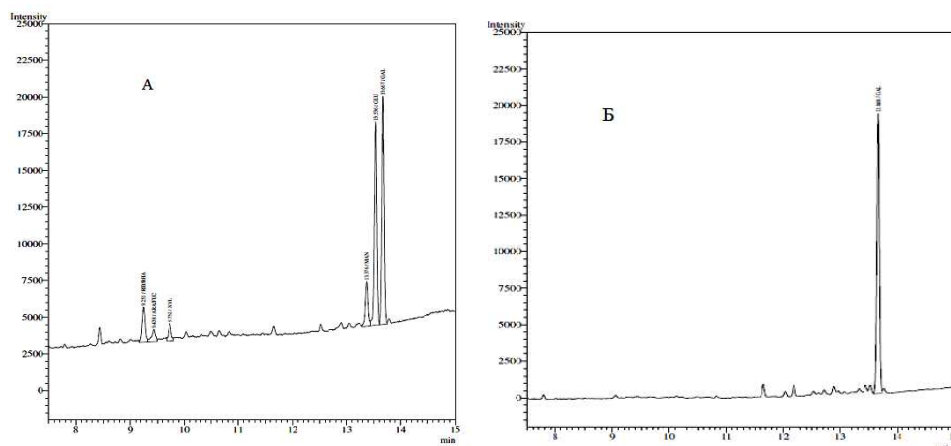


Рис. 3. Моносахаридный состав ЭПС.

а) ЭПС, легко отделяются от клеточной стенки; б) ЭПС, прочно связанные с клеточной стенкой «*T. pseudotuberculosis*»

Однако следует отметить, что данная фракция ЭПС помимо полисахаридов содержала также белки, среди которых могли присутствовать и гликопротеины. Кроме того нельзя исключить присутствия в ЭПС1 продуктов жизнедеятельности бактерий, в частности различных углеводов, например, являющихся продуктами углеводного обмена в клетке глюкозы и маннозы. Поэтому данный препарат не

позволил сделать однозначный вывод о составе ЭПС «*T. psekupsii*». Для многих грамотрицательных бактерий, представителем которых является «*T. psekupsii*», была отмечена прочная связь ЭПС с клеточной стенкой. В связи с этим нами была получена фракция клеточных стенок исследуемого организма, освобожденная от ассоциированных с ней белков. Отсутствие белков контролировали электрофорезом в ПААГ. Результат анализа моносахаридного состава ЭПС2 «*T. psekupsii*» позволил выявить присутствие единственного моносахарида – галактозы (Gal) (рис. 3б).

Таблица 2. Гены, кодирующие ферменты биосинтеза экзополисахаридов у «*Thioflexothrix psekupsii*»

Реакция	Ген	Фермент	Нуклеотидная последовательность гена
UDP- $\alpha$ -D-глюкоза ↔ UDP- $\alpha$ -D-галактоза	galE	5.1.3.2 UDP-глюкозо 4-эпимераза	atgaataccattttaattattggtggtgcgggtatattggtcgcacttggttaa agattttatctaaaaaattaccgtttattaattgtagacaatcttctcgggtt atgtggatgagggtattagcgggtgaatttttattgggatttagcagaaaaa caggcattaacgcaattattaagccattatccaattgatgccgtgatgcacttt gccgccatattgaagtggctgaatctaaagtacgctcctgataaattatga taataatgtggtgcgcactttgaattattagatgcaatggttgcggctaattgtt aagcgattttttctctacggcggctattttggcgaaccgagatggtc ccattgatgagaacacccgcaatattccattaatccttatggtcgcagtaa attaatggtagagcagattttgcgcgattatgatgaagcatttgggttaaagt cgtttgtttgcttattttaatgcggcggcgcagacccgaagggaatt gggcgaacgccatgtccagaacgcatttaattccttagtttacaacc ggcgggacggcgtgatttattacaattttggcgaagattacgacacg ccgacggcacgtgatcagagattatatacatcaatgacttatgcaag cccatgaattggctttgcagcgtttgctgcaatcaaccagtgccgtttac aatttagcaatggtgaggctttctgtacccaagtattgatacggcgc gccaagtgcaggtaaaacaatccccgtgcaatcggaaacacgctgctg ggcgatccagcgcgttagtgccggattctcgtttggcgcggcaggaaac tcggctggcaaccacaatcctgatttaaaagcattattgccgatgctg gcgatgggaacagcgggttga
UDP- $\alpha$ -D-галактоза ↔ UDP- $\alpha$ -D-галактофураноза	glf	5.4.99.9 UDP-галактопиранозо мутаза	atgaaattgattggatgattggtgagcagccttacgggtgctgtattggca gagcgaattgccagcaattgggacagaagattatattggaacagcg caatcatattgagcgaatgcttatgatattatgaacatggggtattaat tcatcattatggcccatattttcatacgaatgcgcgttatattgggattatt tgtcacaattaccacatggcgaccttattatcaccgtgtttgggtgtgattg atgggcaaacagtccaattccttttaattaaattcgtttacgctttattccg ccgcttatgcggataaattagctgaacaattaattcagcaatattggtttaa gtcaaaagtccaatttaaaaattaaagaagaagcagagaaatcaggacaa ggcgtttaaagttttagccgattatattatcgaatgtttccacaattacac gttgaacaatgggatttaacgccgaacaattaagtccttcagtaacggct agagtaccgatttatgtagcagtcgagatgatcgtattttcaagacagttatca aggaatgcccgacaaggatatactgcgttattaaagcgtttattagccatc ccaatatcaaaagtgttataaatgcagattatcgagaaatcgagcattaatt cctcacaatgcctgattatacaggtgcaattgatattctttgatcatgttc atggcgaattgccttatcgcagtttagcgtttaaattcacgcatcatccggaa gatgtcaacaagccgttggcaggtgaattatcccaatgaatatcaatata cccgcataccgaatttaaacatttaacgggacaacgattgcaggcagca cgtgtgctgctgaatatccgaagcctatcgtcggggcgaaaatattcctta ttatccattccagcgtattaccgtgaacaatatcaccgtatttagaag aagcgaaaaagtcaatcctcaagttattttgcaggacgattagccgattat caatattataatattgatcaagcgggtgctcgggctttaacgatttttaagaa aatatattgctgggcgaaacgggttaa

Таким образом, было установлено, что основным компонентом ЭПС «*T. psekupsii*» выступает галактоза, а фракция ЭПС, прочно связанная с клеточной стенкой, представлена высокомолекулярным гомополимером галактозы.

Аннотирование генома «*T. psekupsii*» позволило выявить гены, детерминирующие ферменты, участвующие в синтезе галактозы и галактана: *galE*, кодирующий UDP-глюкозо 4-эпимеразу (К.Ф. 5.1.3.2), *glF*, кодирующий UDP-галактопиранозо мутазу (К.Ф. 5.4.99.9) (табл. 2).

Сравнение аминокислотной последовательности ферментов, участвующих в синтезе галактана, показало высокое сходство с аналогичными ферментами бактерий из семейства *Beggiatoaceae* - 60-70 %. Таким образом, с использованием химических и молекулярно-биологических методов было доказано, что ЭПС «*T. psekupsii*» представлен галактаном.

*Исследование поддержано грантом РФФИ № 15-04-03749; грантом Министерства образования и науки Российской Федерации, проект ВГУ 959.*

### Список литературы

1. Sabra W., Zeng A.-P., Lünsdorf H., Deckwer W.-D. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. Vol. 66, pp. 4037-4044.
2. Garcia-Pichel F. // *J. Bacteriol.* 1989. Vol. 171, pp. 3560-3563.
3. Jørgensen B.B., Revsbech N.P. // *Appl. Environ. Microbiol.* 1983. Vol. 45, pp. 1261-1270.
4. Вудсайд Е., Квапинский Е. Полисахариды микроорганизмов // Молекулярная микробиология (пер. А. Г. Сабельников; ред. Б. Н. Ильященко). Москва, Мир, 1977, 520 с.
5. Al Muhammadi R., Niesmann J., Stücker M., Kreuter A. // *J. Deutsch. Dermatol. Ges.* 2008. Vol. 6, pp. 885-886.
6. Pfennig N.D., Lippert K.D. // *Arch. Microbiol.* 1966. Vol. 55, pp. 245-256.
7. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K. et al. // *Anal. Chem.* 1956. Vol. 28, pp. 350-356.
8. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, pp. 265-275.
9. Hitchcock P.J., Brown T.M. // *J. Bacteriol.* 1983. Vol. 154, pp. 269-277.
10. Westphal O., Jann K. // *Methods Carbohydr. Chem.* 1965. Vol. 5, pp. 83-91.
11. Tsai C.M., Frasch C.E. // *Anal. Biochem.* 1982. Vol. 119, pp. 115-119.
12. Sawardecker J.S., Sloneker J.H., Jeans A. // *Anal. Chem.* 1965. Vol. 37, pp. 1602-1603.
13. Leontein K., Lindberg B., Lönngren J. // *Carbohydr. Res.* 1978. Vol. 62, pp. 359-362.
14. Лакин Г.Ф. Биометрия. Москва, Высшая школа/1990/ 352 с.
15. Flemming H.C., Wingender J. // *Water Sci. Technol.* 2001. Vol. 43(6), pp. 1-8.

### References

1. Sabra W., Zeng A.-P., Lünsdorf H., Deckwer W.-D., *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, Vol. 66, pp. 4037-4044.
2. Garcia-Pichel F., *J. Bacteriol.*, 1989, Vol. 171, pp. 3560-3563.
3. Jørgensen B.B., Revsbech N.P., *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, Vol. 45, pp. 1261-1270.
4. Vudsajd E., Kvapinskij E. Polisaharidy mikroorganizmov // Molekuljarnaja mikrobiologija (per. A.G. Sabel'nikov; red. B.N. Il'jashhenko). Moskva, Mir, 1977, 520 p.
5. Al Muhammadi R, Niesmann J, Stücker M, Kreuter A.J., *Dtsch Dermatol Ges*, 2008. Vol. 6, pp. 885-886.
6. Pfennig N.D., Lippert K.D., *Arch. Microbiol.*, 1966, Vol. 55, pp. 245-256.
7. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K. et al., *Anal. Chem.*, 1956, Vol. 28, pp. 350-356.
8. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J., *J. Biol. Chem.*, 1951. Vol. 193, pp. 265-275.
9. Hitchcock P.J., Brown T.M., *J. Bacteriol.*, 1983, Vol. 154, pp. 269-277.
10. Westphal O., Jann K., *Methods Carbohydr. Chem.*, 1965, Vol. 5, pp. 83-91.

11. Tsai C.M., Frasch C.E., *Anal. Biochem.*, 1982, Vol. 119, pp. 115-119.
12. Sawardecker J.S, Sloneker J.H., Jeans A., *Anal. Chem.*, 1965, Vol. 37, pp. 1602-1603.
13. Leontein K., Lindberg B., Lönngren J., *Carbohydr. Res.*, 1978, Vol. 62, pp. 359-362.
14. Lakin G.F. *Biometriya*. Moskva, Vysshaya shkola Publ., 1990, 352 p.
15. Flemming H.C., Wingender J., *Water Sci. Technol.*, 2001, V. 43(6), pp. 1-8.

---

**Орлова Мария Валерьевна** – аспирант Воронежского государственного университета, Воронеж

**Федоненко Юлия Петровна** – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

**Евстигнеева Стелла Сергеевна** – аспирант лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

**Белюсова Елена Васильевна** – к.б.н., ассистент кафедры биохимии и физиологии клетки Воронежского государственного университета, Воронеж

**Грабович Маргарита Юрьевна** – д.б.н., профессор кафедры биохимии и физиологии клетки Воронежского государственного университета, Воронеж

**Orlova Maria Valerievna** – PhD student in Voronezh State University, Voronezh, e-mail: [maryorl@mail.ru](mailto:maryorl@mail.ru)

**Fedonenko Yulia P.** – PhD in Microbiology and Biochemistry, Senior Researcher in the Laboratory of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms RAS, Saratov

**Yevstigneyeva Stella S.** – PhD student in the Laboratory of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms RAS, Saratov

**Belousova Elena Vasilevna** – PhD, assistant, Voronezh State University, the Biology Department, Division of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh

**Grabovich Margarita Yurievna** - professor in the Department of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: [margarita\\_grabov@mail.ru](mailto:margarita_grabov@mail.ru)