

МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 582.282.123.4:577.152.34

**ФИБРИНОЛИТИЧЕСКАЯ И КОЛЛАГЕНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕИНАЗ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ
ASPERGILLUS OCHRACEUS L-1 И *ASPERGILLUS USTUS* 1****А.А. Осмоловский^{1,*}, Е.А. Попова¹, В.Г. Крейер¹, Н.А. Баранова¹, Н.С. Егоров²**

¹ Кафедра микробиологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

² Международный учебно-научный биотехнологический центр, Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова;
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

* e-mail: aosmol@mail.ru

Показано, что штаммы микромицетов *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1 различаются по проявлению активности внеклеточных протеиназ при разных значениях pH, а также по выраженности своего действия на фибриллярные белки. Выявлено, что протеиназы *A. ochraceus* L-1 проявляют максимальную активность при росте продуцента на среде без нитратов (pH ферментативной реакции 8,0), а протеиназы *A. ustus* 1 проявляют максимальную активность при росте микромицета на среде, содержащей нитрат натрия (pH ферментативной реакции 6,0). Значения удельных фибринолитической и коллагенолитической активностей *A. ochraceus* L-1 в 2,2 и 1,6 раз больше, чем у *A. ustus* 1, соответственно, однако *A. ustus* 1 практически не проявляет общей протеолитической (казеинолитической) активности и обладает высоким соотношением фибринолитической активности и общей протеолитической (казеинолитической) активности (6,92), что делает его перспективным продуцентом протеиназ, расщепляющих фибрин и коллаген.

Ключевые слова: фибринолитические ферменты, коллагенолитические ферменты, протеиназы микромицетов.

Фибриллярные белки, в частности фибрин и коллаген, являются одними из трудногидролизуемых субстратов. Для их расщепления необходимы протеолитические ферменты со специфической активностью, применение которых особенно востребовано в медицине. Такие протеиназы используются в составе препаратов для удаления некротизированных тканей, гнойных выделений и кровяных сгустков в открытых ранах [1]. Препараты протеиназ с направленной фибринолитической активностью также весьма перспективны для использования в медицине в качестве тромболитических препаратов [2]. Наиболее эффективными протеиназами для этих целей являются ферменты, образуемые микроорганизмами, в том числе и микромицетами [3, 4].

Мицелиальные грибы, в отличие от бактерий, могут секретировать в окружающую среду до 5–12 протеиназ, активных при разных значениях физико-химических параметров и обладающих разной субстратной специфичностью [4, 5], поэтому микромицеты способны использовать для питания широкий спектр разнообразных белковых субстратов, встречающихся в почве [5]. Среди представителей разных групп мицелиальных грибов наибольший интерес представляют микромицеты рода

Aspergillus, которые способны образовывать несколько типов протеиназ направленного действия [1, 6]. В последнее время была показана способность протеиназ аспергиллов осуществлять специфические реакции ограниченного протеолиза [7, 8].

Среди аспергиллов известны продуценты как коллагеназ, так и фибринолитических протеиназ [9–11]. Однако выделенные при их культивировании протеиназы были высоко активны в отношении глобулярных белков, что накладывает ограничения на возможность их медицинского применения, связанные с токсичностью и проявляемыми аллергическими реакциями. Поэтому необходим поиск новых продуцентов протеиназ с выраженной активностью к фибриллярным белкам. Важным для оценки эффективности таких протеиназ является соотношение фибринолитической и неспецифической общей протеолитической (казеинолитической) активности (ФА/ОПА) [12].

Штаммы микромицетов *Aspergillus ochraceus* и *Aspergillus ustus*, использованные в данной работе, были отобраны в результате предыдущих исследований как перспективные продуценты протеиназ с фибринолитической и коллагенолитической активностью [13, 14].

Целью работы было изучение действия протеиназ *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1 на фибриллярные белки (фибрин и азоколлаген) при разных значениях pH.

Материалы и методы

Объекты исследования и условия культивирования.

Использовали штаммы *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1 из коллекции кафедры микробиологии МГУ. Микромицеты культивировали в глубинных условиях на орбитальной качалке (200 об/мин) в качалочных колбах объемом 750 мл со 100 мл питательной среды при 28°C в течение 2 сут на среде, содержащей сусло, глюкозу и пептон [15], после чего часть полученного посевного материала переносили в среды состава (в %): глюкоза — 3,5, крахмал — 0,1, гидролизат рыбной муки — 0,5, пептон — 0,5, NaCl — 0,2, KH_2PO_4 — 0,05, MgSO_4 — 0,05 (среда № 1); глюкоза — 3,0, глицерин — 7,0, гидролизат рыбной муки — 0,5, NaNO_3 — 0,2, KH_2PO_4 — 0,05, MgSO_4 — 0,05 (среда № 2) с последующим культивированием в течение 5 сут. Засев осуществляли смывом спор микромицетов, выращенных в пробирках на скошенном сусло-агаре в течение 7 сут.

Определение протеолитической активности.

Активность протеиназ *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1 определяли в культуральной жидкости после предварительного отделения биомассы фильтрованием при разных значениях pH с субстратами — казеином, фибрином и азоколлагеном, приготовленными на 0,1 М натрий-ацетатном буфере (pH 5,0 и 6,0) или же на 0,1 М Трис-НСl буфере (pH 7,0 и 8,0).

Общую протеолитическую (казеинолитическую) активность культур определяли с помощью модифицированного метода Ансона — Хагихары [16, 17]. К 200 мкл пробы добавляли 400 мкл 1%-ного раствора казеина по Гаммерстену в соответствующем буфере, после чего проводили инкубацию при 37°C в течение 10 мин. Останавливали реакцию добавлением 600 мкл 10%-ной трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Далее образцы центрифугировали при 12 000 g и определяли поглощение при 275 нм в супернатанте. Активность выражали в мкМ тирозина, образовавшегося в течение 1 мин в 1 мл культуральной жидкости ($E_{\text{Тир}}$). Для расчета общей протеолитической активности строили калибровочную кривую по тирозину.

Фибринолитическую (плазминоподобную) активность определяли с помощью суспензии бычьего фибрина [18]. К 200 мкл пробы добавляли 400 мкл 1%-ной суспензии фибрина, приготовленного на соответствующем буфере, и после инкубации в течение 60 мин при 37°C реакцию останавливали добавлением 600 мкл 10%-ной ТХУ. Далее в супернатанте, полученном описанным выше способом, проводили измерение поглощения при 275 нм. Активность выражали в $E_{\text{Тир}}$.

Определение коллагенолитической активности проводили с использованием азоколлы ("Calbio-tech", США) по общепринятой методике [14]. Ак-

тивность выражали в мкг расщепившегося азоколлы за 1 мин ($E_{\text{Азк}}$) в 1 мл культуральной жидкости.

Реакции проводили при постоянном перемешивании в термошейкере TS-100 ("BioSan", Латвия). Измерение оптической плотности растворов проводили на спектрофотометре Hitachi 200-20 (Япония).

Определение белка в культуральной жидкости.

Концентрацию белка определяли после предварительного осаждения в культуральной жидкости дезоксихолатом натрия и ТХУ [19]. К 1 мл культуральной жидкости добавляли 100 мкл 0,15%-ного дезоксихолата натрия и выдерживали при комнатной температуре в течение 10 мин, после чего добавляли 50 мкл 100% ТХУ. Далее образцы центрифугировали при 12 000 g, супернатант сливали, а осадок промывали 1 мл холодного этанола, высушивали в токе воздуха и растворяли в 0,05 М Трис-НСl буфере, pH 8,0-8,2. В полученных растворах проводили спектрофотометрическое определение концентрации белка при 280 нм в кювете с длиной пути в 1 см [20].

Результаты и обсуждение

Активность протеиназ штаммов *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1 была изучена при значениях pH ферментативной реакции от 5,0 до 8,0 с интервалом через единицу. В этом диапазоне pH работают сериновые протеиназы, которые характерны для аспергиллов — изолятов почв и растительных остатков [4]. Поскольку мицелиальные грибы обладают смешанным типом питания по источникам азота, образование протеиназ определяли на двух средах — с источниками аминного азота (среда № 1) или аминного и минерального азота (среда № 2).

В табл. 1 приведены данные общей протеолитической, фибринолитической и коллагенолитической активности *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1. Как видно из таблицы, значения pH, при которых микромицеты проявляют максимальную активность, неодинаковы. Так, для протеиназ *A. ochraceus* L-1 максимальные значения общей протеолитической и фибринолитической активности были показаны при pH реакции 8,0, а коллагенолитической — при pH 7,0. Максимальные значения всех трех изученных активностей у протеиназ *A. ustus* 1 приходились на pH 6,0, однако этот штамм был высоко активен и при pH 8,0 в случае с фибринолитической и коллагенолитической активностью, что может указывать на присутствие в протеолитическом комплексе этого микромицета нескольких ферментов. Протеолитические ферменты обеих культур проявляли слабую активность или были неактивны при pH 5,0.

Следует отметить, что протеолитическая активность *A. ochraceus* L-1 была выше на среде № 1, а *A. ustus* 1 — на среде № 2, это может указывать на то, что разные источники азота в составе среды по-разному влияют на регуляцию секреции протеиназ этих микромицетов. Для *A. ochraceus* ранее

Таблица 1

Протеолитическая активность микромицетов *A. ochraceus* и *A. ustus* при разных значениях pH

Активность	pH реакции	<i>A. ochraceus</i>		<i>A. ustus</i>	
		Среда № 1	Среда № 2	Среда № 1	Среда № 2
Общая протеолитическая, $E_{\text{тип}}/\text{мл}$	5,0	0,0	0,0	1,1	0,0
	6,0	64,5	0,1	5,3	3,4
	7,0	83,1	1,3	32,1	1,5
	8,0	94,9	2,8	25,1	0,0
Фибринолитическая, $E_{\text{тип}}/\text{мл}$	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,0	10,0	0,2	8,1	22,7
	7,0	14,4	5,0	17,3	18,5
	8,0	17,6	8,5	5,2	22,1
Коллагенолитическая, $E_{\text{азк}}/\text{мл} \times 10^{-3}$	5,0	3,5	0,0	0,0	19,5
	6,0	21,5	14,2	24,3	107,2
	7,0	59,7	30,3	33,2	87,3
	8,0	56,4	11,2	37,1	101,4

было показано, что добавление к среде с нитратом натрия белковых субстратов увеличивало протеолитическую активность культуры [21]. В случае с *A. ustus* 1 добавление нитрата натрия к среде индуцировало образование протеиназ. Общая протеолитическая активность *A. ochraceus* L-1 на среде № 1 была в 7,9 раз больше, чем на среде № 2, а фибринолитическая и коллагенолитическая — почти в 2 раза. Фибринолитическая и коллагенолитическая активности микромицета *A. ustus* 1, выращенного на среде № 2, были в 1,3 и 2,9 раз больше, соответственно, чем на среде № 1. Эти активности были на 22,5% и 44,3% больше, чем у *A. ochraceus* L-1.

Общая протеолитическая активность *A. ustus* 1 была выше на среде № 1 ($32,1 E_{\text{тип}}/\text{мл}$), а на среде № 2 она была незначительна ($3,4 E_{\text{тип}}/\text{мл}$). Высокие значения фибринолитической и коллагенолитической активности и минимальное проявление общей протеолитической активности на одной среде (среда № 2) могут свидетельствовать о содержании в протеолитическом комплексе *A. ustus* 1 протеиназ с разной специфичностью, в том числе высокоактивных к фибриллярным белкам, а также о возможности регулировать их секрецию.

Определение содержания белка в культуральной жидкости продуцентов позволило выявить, что *A. ustus* 1 выделяет в среду культивирования больше белка, чем *A. ochraceus* L-1 (табл. 2). Сопоставление удельных значений фибринолитической и коллагенолитической активностей внеклеточных протеиназ данных микромицетов, рассчитанных на мкг белка, при pH реакции, проявившем максимальные значения активности, показало, что *A. ochraceus* L-1 имеет примерно одинаковые значения удельных активностей при росте на обеих

средах и они выше, чем у *A. ustus* 1 в 2,1 и 1,6 раз, соответственно (табл. 2). Значения удельных фибринолитической и коллагенолитической активностей протеиназ *A. ustus* 1, как и значения общих протеолитических активностей были на среде № 2 в 3 и 7 раз больше, чем на среде № 1. Сравнение удельных значений общей протеолитической активности протеиназ микромицетов на обеих средах показало, что *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1 обладают в 3,2 и 3,8 раз, соответственно, большей активностью на среде № 1, чем на среде № 2.

Соотношение фибринолитической и общей протеолитической активностей (ФА/ОПА) микромицетов *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1 представлено на рисунке. Как для значений общих активностей, так и для значений удельных активностей это соотношение для *A. ustus* 1 в 38 раз больше, чем для *A. ochraceus* L-1, что говорит о большей специфичности протеиназ *A. ustus* 1 к фибриллярным белкам по сравнению с *A. ochraceus* L-1.

Соотношение ФА/ОПА, показанное для протеиназ *A. ustus* 1, на среде № 2 в 11,5 раз больше, чем полученное на среде № 1. Вероятно, качественно и количественно изменяя источники азота в среде культивирования, возможно увеличить это соотношение и, таким образом, получить высокоспецифичные к фибрину и коллагену протеиназы. Аналогичные результаты были показаны для *Penicillium chrysogenum* Н9. На среде с нитратом натрия соотношение ФА/ОПА для протеиназ этого микромицета, как и для *A. ustus* 1, составило больше 6, а при варьировании источниками азота удалось его увеличить в 2,6 раза [12]. Именно поэтому протеолитические ферменты, образуемые *A. ustus* 1 и проявляющие выраженное действие на фибрин, представляют значительный интерес.

Таблица 2

Удельные значения протеолитической активности *A. ochraceus* и *A. ustus*

Микромицет	№ среды	Общий белок, мкг/мл	Удельная общая протеолитическая активность, $E_{\text{Тир}}/\text{мкг белка}$	Удельная фибринолитическая активность, $E_{\text{Тир}}/\text{мкг белка}$	Удельная коллагенолитическая активность, $E_{\text{Азк}}/\text{мкг белка} \times 10^{-3}$
<i>A. ochraceus</i>	1	5,3	17,90	3,32	11,26
	2	2,2	5,68	3,86	13,77
<i>A. ustus</i>	1	31,1	1,00	0,55	1,19
	2	12,8	0,26	1,77	8,37

Таким образом, микромицеты *A. ochraceus* L-1 и *A. ustus* 1 изучены в качестве продуцентов протеиназ направленного действия. Показано, что внеклеточные протеиназы, образуемые этими штаммами, отличаются по проявлению активности при разных значениях pH и выраженности своего действия на фибриллярные белки. Внеклеточные протеиназы *A. ochraceus* L-1 проявляют максимальную активность при росте микромицета на среде без нитрата при pH 8,0 и высокие значения удельных фибринолитической ($3,86 E_{\text{Тир}}/\text{мкг белка}$) и коллагенолитической ($13,77 E_{\text{Азк}}/\text{мкг белка} \times 10^{-3}$) активностей. Для внеклеточных протеиназ *A. ustus* 1 показана максимальная активность при росте продуцента на среде, содержащей нитрат натрия, при pH реакции 6,0 и небольшими, по сравнению с *A. ochraceus* L-1, значениями удельных фибринолитической и коллагенолитической активностей ($1,77 E_{\text{Тир}}/\text{мкг белка}$ и $8,37 E_{\text{Азк}}/\text{мкг белка} \times 10^{-3}$, соответственно). Однако штамм *A. ustus* 1 практически не проявляет общей протеолитической (казеино-

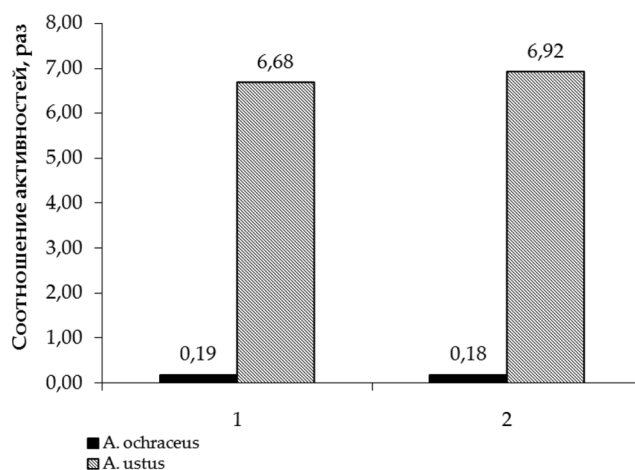


Рисунок. Соотношение общих фибринолитической и протеолитической (1) и удельных (2) активностей протеиназ микромицетов *A. ochraceus* и *A. ustus*

литической) активности, и ФА/ОПА составило 6,92, что делает его перспективным продуцентом фибринолитических и коллагенолитических протеиназ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zanoelo F.F., Giannesi G.C., Cabral H. Proteolytic enzymes: biochemical properties, production and biotechnological application // Fungal enzymes / Eds. M.L.T.M. Polizeli and M. Rai. Boca Raton: CRC Press, 2013. P. 94–112.
2. Kotb E. Activity assessment of microbial fibrinolytic enzymes // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2013. Vol. 97. N 15. P. 6647–6665.
3. Egorov N.S. Microbiological synthesis of proteolytic enzymes possessing fibrinolytic activity // Thrombosis and thrombolysis / Eds. E.I. Chazov and V.N. Smirnov. N.Y.: Consultants Bureau, 1986. P. 197–221.
4. Nirmal N.P., Shankar S., Laxman R.S. Fungal proteases: An overview // Int. J. Biotech. Biosci. 2011. Vol. 1. N 1. P. 1–40.
5. Ландау Н.С., Кураков А.В., Гуликова О.М., Батомункуева Б.П., Струкова С.М., Егоров Н.С. Экстрацеллюлярные протеиназы микромицетов с фибринолитическими и антикоагулянтными свойствами // Микробиология. 1998. Т. 67. № 2. С. 215–220.
6. Клечковская В.В., Егоров Н.С. О плазмокоагулирующей и фибринолитической активностях грибов рода *Aspergillus* // Микробиология. 1983. Т. 52. № 3. С. 396–403.
7. Osmolovskiy A.A., Kreier V.G., Kurakov A.V., Baranova N.A., Egorov N.S. *Aspergillus ochraceus* micromycetes —

producers of extracellular proteinases — protein C activators of blood plasma // Appl. Biochem. Microbiol. 2012. Vol. 48. N 5. P. 488–492.

8. Osmolovskiy A.A., Zvonareva E.S., Kreyer V.G., Baranova N.A., Egorov N.S. The effect of micromycete extracellular proteases of the *Aspergillus* genus on the proteins of haemostatic system // Russ. J. Bioorg. Chem. 2014. Vol. 40. N 6. P. 634–639.

9. Sukhosiroya E.A., Nikitina Z.K., Yakovleva M.B., Veshchikova E.V., Bykov V.A. Characteristics of collagenolytic enzymes secreted by deuteromycete fungi *Aspergillus flavus* // Bull. Exp. Biol. Med. 2003. Vol. 135. N 5. P. 447–451.

10. Barthomeuf C. Pourrat H., Pourrat A. Collagenolytic of a new semi-alkaline protease from *Aspergillus niger* // J. Ferment. Bioeng. 1992. Vol. 73. N 3. P. 233–236.

11. Schirasaka N., Naitou M., Okamura K., Kusuda M., Fukuta Y., Terashita T. Purification and characterization of a fibrinolytic protease from *Aspergillus oryzae* KSK-3 // Mycoscience. 2012. Vol. 53. N 5. P. 354–364.

12. El-Aassar S.A., El-Badry H.M., Abdel-Fattah A.F. The biosynthesis of proteases with fibrinolytic activity in immobilized cultures of *Penicillium chrysogenum* H9 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1990. Vol. 33. N 1. P. 26–30.

13. Попова Е.А., Крейер В.Г., Осмоловский А.А., Егоров Н.С. Получение препарата коллагенолитической протеиназы, образуемой *Aspergillus ustus* в условиях глутинного и твердофазного культивирования // Усп. мед. микологии. 2014. Т. 12. С. 333–335.

14. Sharkova T.S., Kurakov A.V., Osmolovskiy A.A., Matveeva E.O., Kreier V.G., Baranova N.A., Egorov N.S. Screening of producers of proteinases with fibrinolytic and collagenolytic activities among micromycetes // Microbiology. 2015. Vol. 84. N 3. P. 359–364.

15. Batomunkueva B.P., Egorov N.S. Isolation, purification and resolution of the extracellular proteinase complex of *Aspergillus ochraceus* 513 with fibrinolytic and anticoagulant activities // Microbiology. 2001. Vol. 70. N 5. P. 519–522.

16. Hagihara B., Matbara H., Nakai M., Okunuk K. Crystalline bacterial proteinase. I. Preparation of crystalline proteinase of *Bacillus subtilis* // J. Biochem. 1958. Vol. 45. N 3. P. 185–194.

17. Егоров Н.С., Ландау Н.С., Буяк Л.И., Крейер В.Г. Гидролитическая система нокардиоформной бактерии

Nocardia minima в процессе ее роста, развития и дифференциации // Микробиология. 1991. Т. 60. № 4. С. 637–643.

18. Mukherjee A.K., Rai C.K., Thakur R., Chattopadhyay P., Kar S.K. Bafibrinase: a non-toxic, non-hemorrhagic, direct-acting fibrinolytic serine protease from *Bacillus sp.* strain AS-S20-I exhibits *in vivo* anticoagulant activity and thrombolytic potency // Biochimie. 2012. Vol. 94. N 6. P. 1300–1308.

19. Bollag D.M., Edelstein S.J. Protein Methods. N.Y.: Wiley-Liss Inc., 1991. P. 72–73.

20. Gertler A., Trop M. The elastase-like enzymes from *Streptomyces griseus* (Pronase). Isolation and partial characterization // Eur. J. Biochem. 1971. Vol. 9. N 1. P. 90–96.

21. Osmolovsky A.A., Kreier V.G., Baranova N.A., Kurakov A.V., Egorov N.S. Production of extracellular proteinases — protein C activators of blood plasma — by the micromycete *Aspergillus ochraceus* during submerged and solid-state fermentation // Appl. Biochem. Microbiol. 2013. Vol. 49. N 6. P. 581–586.

Поступила в редакцию
06.08.2015

FIBRINOLYTIC AND COLLAGENOLYTIC ACTIVITY OF EXTRACELLULAR PROTEINASES OF MICROMYCETES *ASPERGILLUS OCHRACEUS* L-1 AND *ASPERGILLUS USTUS* 1

A.A. Osmolovskiy^{1,*}, E.A. Popova¹, V.G. Kreier¹, N.A. Baranova¹, N.S. Egorov²

¹ Department of Microbiology, School of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

² International Biotechnological Center, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;
* e-mail: aosmol@mail.ru

It was shown that extracellular proteinases produced by micromycetes *A. ochraceus* L-1 and *A. ustus* 1 differ by the values of activity at various pH values and the intensity of its effect on fibrillar proteins. It was revealed that the proteinase of *A. ochraceus* L-1 demonstrated maximum activity during the growth of the producer on nitrate-free growth medium, at pH 8.0, and proteinase of *A. ustus* 1 showed maximum activity during the growth of the micromycete on a medium containing sodium nitrate, at pH of 6.0. Values of specific fibrinolytic and collagenolytic activities of *A. ochraceus* L-1 were in 2.2 and 1.6 times greater than those activities of *A. ustus* 1, but *A. ustus* 1 showed low values of total proteolytic (caseinolytic) activity and had a high ratio of fibrinolytic activity to total proteolytic (caseinolytic) activity (6.92), making it a promising producer of proteinases which hydrolyze fibrin and collagen.

Key words: fibrinolytic enzymes, collagenolytic enzymes, proteinases of micromycetes.

Сведения об авторах:

Осмоловский Александр Андреевич — канд. биол. наук, зам. декана, ст. преп. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: aosmol@mail.ru

Попова Елизавета Андреевна — науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: veliania@gmail.com

Крейер Валериана Георгиевна — канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: vkreyer@yandex.ru

Баранова Нина Андреевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: vkreyer@yandex.ru

Егоров Николай Сергеевич — докт. биол. наук, проф. Международного биотехнологического центра МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-30-33; e-mail: nsegorov21@mail.ru