МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 615.277.3+577.2

ПОИСК МИШЕНЕЙ ДЛЯ ГОССИПОЛА В СОСТАВЕ БЕЛКА PARP1

С. Гросс, Е.Ю. Котова[1], Н.В. Малюченко[2,*], Дж.М. Паскаль[3], В.М. Студитский[1, 2]

[1] *Лаборатория эпигенетики рака, Центр исследований рака Фокс Чейз; США, штат Пенсильвания, 19111, г. Филадельфия, просп. Коттмана, д. 333*
[2] *кафедра биоинженерии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;*
[3] *кафедра биохимии и молекулярной медицины, Университет Монреаля; Канада, Квебек H3C 3J7, г. Монреаль, 2900 бульвар Эдуарда Монпети*
[*] *e-mail: mal_nat@mail.ru*

PARP1 представляет собой ключевой фермент, участвующий в репарации ДНК, репликации и транскрипции, а ингибиторы PARP1 рассматриваются как перспективные противоопухолевые препараты, действующие как химио- и радиосенсибилизаторы при традиционной терапии злокачественных образований. Ранее было обнаружено, что природный полифенол из хлопчатника — госсипол — способен ингибировать PARP1, но точный механизм его действия остается неизвестным. В данной работе проводили поиск мишеней действия госсипола, используя серию мутантов PARP1, лишенных домена BRCT или содержащих различные мутации в Zn3-домене. Ингибирование госсиполом PARP1 сравнивали с действием олапариба — ингибитора PARP1, с известным механизмом действия, направленным на каталитический центр PARP1. Было показано, что ни домен BRCT, ни какой-либо из трех Zn-доменов не требуются для ингибирования госсиполом каталитической активности PARP1, поскольку данный ингибитор проявлял сходную активность по отношению как к нативному, так и к мутантным вариантам PARP1. Полученные данные противоречат высказанному ранее предположению, согласно которому, мишенью для действия госсипола является BRCT-домен PARP1. Таким образом, мишенью действия госсипола, видимо, являются другие домены или междоменные участки белка PARP1.

Ключевые слова: *PARP1, олапариб, госсипол, BRCT-домен, Zn3-домен, WGR-домен, поли(АДФ-рибозил)ирование.*

Белки поли(АДФ-рибоза)-полимераз (PARP) являются ядерными и цитоплазматическими ферментами, которые расщепляют НАД+ до никотинамида и АДФ-рибозы с образованием длинных и разветвленных полимеров АДФ-рибозы на белках-мишенях, включая топоизомеразы, гистоны и PARP [1]. За исключением гистонов, поли(АДФ-рибоза)-полимераза 1 (PARP1) является самым распространенным ядерным белком (1–2 миллиона молекул на клетку). Именно он ответственен за продукцию примерно 90% полимеров АДФ-рибозы в клетке [2, 3]. Поли(АДФ-рибозил)ирование является регулятором клеточного цикла, репликации, старения и гибели клетки, моделирования структуры хроматина, транскрипции генов и др. [4, 5]. Белок PARP1 мышей и человека (Рис. 1А; молекулярный вес — 116 кДа) имеет модульную структуру с тремя крупными функциональными областями: ДНК-связывающей, автомодификации и каталитической [6, 7]. Область связывания с ДНК содержит три домена цинковых пальцев (Zn1, Zn2, Zn3), которые связываются с одноцепочечными или двухцепочечными разрывами в ДНК-цепи, а также с линкерной ДНК в хроматине [8]. Третий цинковый палец (Zn3), обнаруженный в области 250–350 а.о, является уникальным и отличается по структуре и функциям от Zn1 и Zn2 [9, 10]: он не только участвует в активации PARP в ответ на повреждение ДНК, но также играет определенную роль в компактизации хроматина [11] [11]. Биохимические исследования демонстрируют, что Zn3 служит связующим звеном между ДНК-связывающей областью и WGR-доменом области автомодификации, в результате такого взаимодействия происходит стимуляция каталитической активности PARP1 [12]. Область автомодификации, расположенная в центральной части PARP1, содержит BRCT-домен (от breast cancer type 1 C Terminus) и WGR-домен, обогащенный остатками Trp (W), Gly (G) и Arg (R). BRCT обеспечивает белок-белковое взаимодействие и обычно содержится в белках, участвующих в репарации ДНК и контроле клеточного цикла [13]. Домен BRCT требуется для взаимодействия PARP1 с различными белками-партнерами, включая XRCC1 [14], hUbc9 [15], гистонами [16], oct-1 [17], и YY1 [18]. Автомодификация (поли(АДФ-рибозил)ирование самого PARP1) может регулировать взаимодействие между PARP1 и его партнерами. BRCT-домен является потенциальной мишенью для действия различных низкомолекулярных ингибиторов, способных нарушать белок-белковые взаимодействия [19]. Мотив WGR вовлечен в формирование междоменных контактов. Каталитическая область PARP1 содержит два домена — спиральный (HD)

и АДФ-рибозил-трансферазный. Как правило, именно каталитическая область является мишенью действия ингибиторов PARP1. Ингибиторы PARP1 рассматриваются в качестве перспективных противоопухолевых агентов [20], действующих как химио- и радиосенсибилизаторы при традиционной терапии злокачественных образований. Кроме того, ингибиторы PARP1 могут использоваться как самостоятельные лекарственные средства против опухолей, в которых нарушены определенные пути репарации ДНК. Экспрессия PARP1 повышена при меланомах, раке легкого, молочной железы и других опухолевых заболеваниях. При этом повышенный уровень экспрессии считается прогностическим признаком, связанным с худшим прогнозом выживаемости.

Практически все существующие ингибиторы PARP1 ориентированы на связывание с каталитическим доменом PARP1 и конкуренцию с НАД+. Следует отметить, что НАД+ является кофактором, который взаимодействует со многими ферментами, вовлеченными во множество клеточных процессов, поэтому конкуренция с НАД+ приводит к высокой токсичности. Эта основная причина, по которой многие ингибиторы PARP1 не прошли испытания и сошли с дистанции уже на I и II стадиях клинических исследований. Среди ингибиторов PARP1, дошедших до III стадии и одобренных как Европейской комиссией, так и Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США к применению в клинике, находится олапариб (выпускаемый под названием Lynparza™ “AstraZeneca”), однако применение олапариба из-за ряда побочных эффектов ограничено пациентками с диагнозом “рак яичников с мутацией BRC”, чувствительными к препаратам платины. Поскольку использование ингибиторов, ориентированных на каталитический домен PARP1, демонстрирует высо-

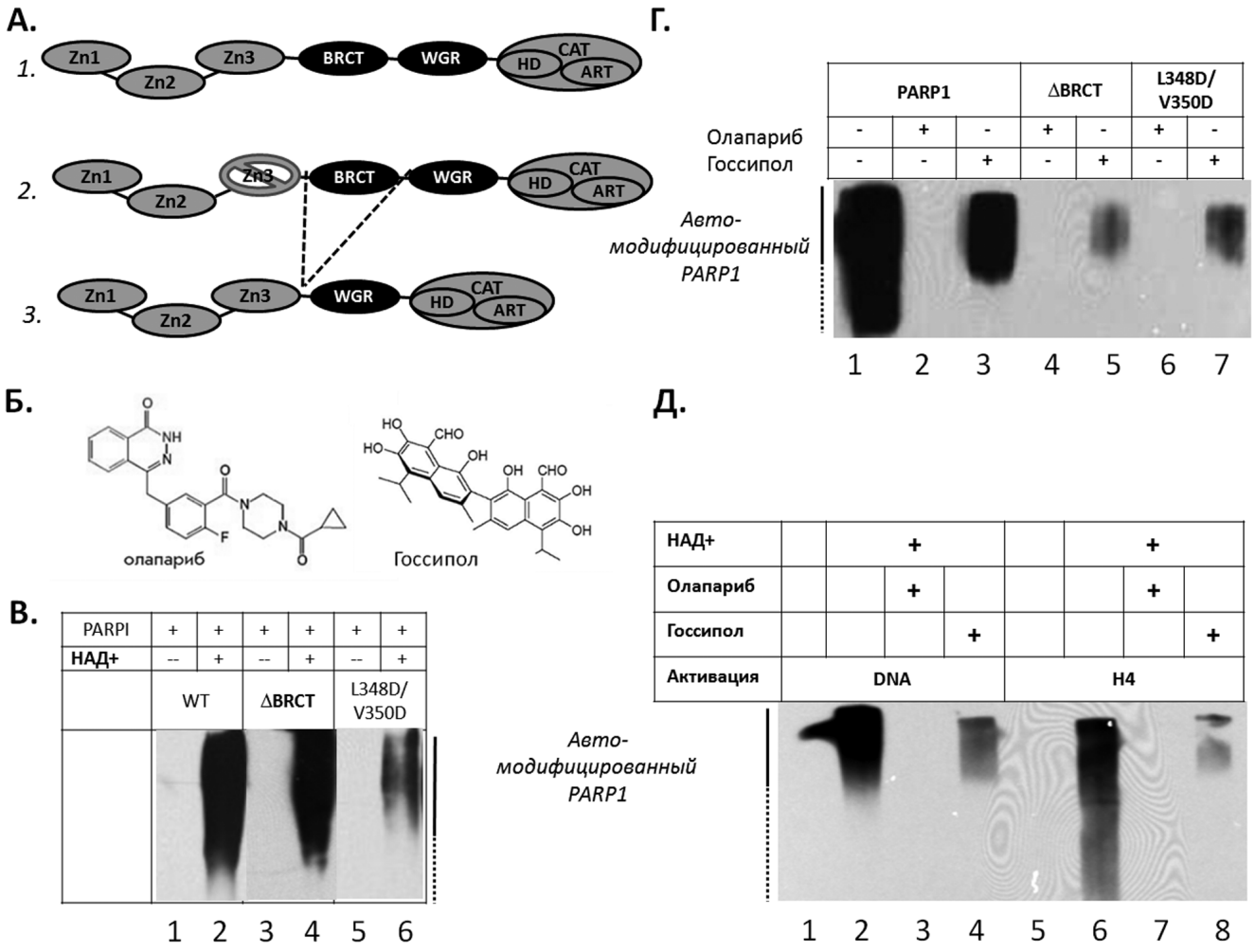

Рисунок. Анализ мишеней для госсипола в составе белка PARP1. **А.** Конструкты Полноразмерный PARP1 и его различные мутантные варианты. (1) PARP1, (2) PARP1, содержащий мутации в домене Zn3 (L348D/V350D), (3) PARP1 с делетированным доменом BRCT (ΔBRCT). **Б.** Структуры олапариба и госсипола. **В.** Вестерн-блот с моноклональными антителами к поли(АДФ)рибозе, показывающий эффективность авто-модификации PARP1 и его вариантов ΔBRCT и L348D/V350D (Zn3) в отсутствие ингибиторов олапариба и госсипола. **Г.** Вестерн-блот с моноклональными антителами к поли(АДФ)рибозе, показывающий эффективность авто-модификации PARP1, его варианта ΔBRCT и мутанта по Zn3 в присутствии ингибиторов олапариба и госсипола. **Д.** Вестерн-блот с моноклональными антителами к поли(АДФ)рибозе, показывающий эффективность авто-модификации PARP1 активированного с помощью ДНК или гистона H4 в отсутствие и в присутствии ингибиторов олапариба и госсипола. Эффективность действия обоих ингибиторов не зависит от механизма активации PARP1

кую токсичность, перспективным подходом к созданию новых, менее токсичных ингибиторов PARP1, является поиск соединений, направленных на другие функциональные домены данного белка.

Госсипол может связываться с PARP1 и ингибировать его активность [19]. Госсипол является природным полифенолом из хлопчатника, обладающим мультифункциональными свойствами, в частности — противовирусной, противомикробной, противопротозойной, антиоксидантной, противоопухолевой активностью [21]. З. На и др. [19] предположили, что механизм ингибирующего PARP1 действия госсипола связан не с ингибированием активного центра фермента, а со взаимодействием с BRCT-доменами двух молекул PARP1, в результате которого происходит сшивка двух молекул фермента и фиксация конформации доменов PARP1, которая препятствует реализации каталитической активности. Однако авторы данной работы не исследовали роль BRCT-домена в контексте полноразмерного белка PARP1 и поэтому многие предположения выглядит достаточно спорными. В настоящей работе, с помощью мутантов PARP1, были проверены потенциальные мишени действия госсипола.

Материалы и методы

Полноразмерный PARP1 и его мутанты по доменам BRCT и Zn3 получали по методике, описанной ранее [22]. Схема используемых белков и мутантов представлена на рис. 1, А. Одноцепочечную ДНК (Sigma, США) обрабатывали ультразвуком в течение 1 ч для внесения разрывов. ДНК с разрывами использовали для активации PARP1. Для иммуноблоттинга использовали моноклональные антитела 10H (anti-PAR, Tulip Biolabs). Гистон H4 получали, как описано ранее [23]. В работе использовали госсипол (Santa Cruz Biotechnology, США, CAS 303-45-7) и олапариб (Santa Cruz Biotechnology, США, CAS 763113-22-0) (формулы представлены на рис. 1, Б). Активацию PARP1 проводили следующим образом: 1 пМ белка PARP1 смешивали с 100 нг ssДНК или 1 мкг гистона H4 в присутствии 1 мкМ НАД+ (отдельно или в комбинации с 10 пМ ингибитора — олапариба или госсипола) в общем объёме 15 мкл. Реакционную смесь инкубировали 40 мин, реакцию останавливали добавлением 5 мкл 4-кратного буфера Лемли для нанесения образцов. Оценку поли(АДФ-рибозил)ирования PARP1 в присутствии ингибиторов проводили с помощью иммуноблоттинга. Вначале образцы в 4-кратном буфера Лемли разделяли в 4–12% NuPAGE геле в MOPS (3-[N-Морфолино] пропансульфоновая кислота) буфере (Invitrogen, США) в течение 45 мин, а затем проводили перенос на поливинилиденфторидную мембрану при 4°C в течение 2 ч при 240 мА. Мембрану блокировали PBS-Tween, содержащим 5% сухого молока, в течение 1 ч при комнатной температуре, отмывали и затем инкубировали с 10 мл 10H anti-PAR антител (1:2000 разбавленных в PBS-Tween, содержащем 5% сухого молока) в течение 1 ч, отмывали три раза по 10 мин в PBS-Tween и инкубировали с 10 мл козьих антивидовых мышиных вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена (1:5000 разбавленных в PBS-Tween, содержащем 5% сухого молока) в течение 1 ч, отмывали три раза по 10 мин в PBS-Tween. Продукты иммуноблоттинга выявляли с помощью ECL-реагента (Sigma, США).

Результаты

Анализ влияния олапариба и госсипола (рис. 1, В) на каталитическую активность PARP1 показал, что эти вещества в разной степени ингибируют реакцию поли(АДФ рибозил)ирования (PAR): олапариб — полностью блокирует, а госсипол — лишь частично (рис. 1, В, рис. 1, Г). Для того чтобы оценить роль домена BRCT в ингибировании PARP1 использовали мутант PARP1, содержащий делецию всего домена BRCT (ΔBRCT) (рис. 1, А, конструкция 3). Несмотря на то, что домен BRCT является частью области автомодификации белка PARP1, его удаление не устраняет полностью способность к автомодификации белка (рис. 1, В, дорожка 4). Олапариб полностью ингибировал автомодификацию ΔBRCT белка, а госсипол — лишь частично (рис. 1, Г). Таким образом, оба вещества проявляют сходную активность по отношению как к нативному, так и к мутантному PARP1, что указывает, на то, что удаление BRCT-домена не влияет на активность ингибиторов. В случае с олапарибом, мишенью которого является каталитический центр фермента, такой результат был ожидаем, однако, для госсипола, мишенью которого может являться BRCT-домен, как описано в работе [19], результат оказался неожиданным.

Дальнейший поиск мишеней действия госсипола был проведен с использованием мутантов по Zn3-домену (рис. 1, А, конструкция 2), поскольку данная область также вовлечена в формирование междоменных взаимодействий внутри PARP1, а госсипол может нарушать такие взаимодействия. Для исследования использовали мутант по Zn3 с двумя мутациями Zn3 L348D/V350D в области PARP1, важной для компактизации хроматина [11]. Результаты показали, что мутантный белок также остается функционально активным (рис. 1, В) и его PAR-активность ингибируется в присутствии госсипола сходным образом (рис. 1, Г, дорожки 6, 7). Таким образом, BRCT- и Zn3-домены не являются мишенями действия госсипола.

В двух предыдущих сериях экспериментов активировали PARP1 путем смешивания с ДНК с одноцепочечным разрывом. Далее, сравнивали способность госсипола ингибировать активацию PARP1, вызванную ДНК, с H4-зависимой активацией (рис. 1, Д, дорожки 4,8) Видно, что госсипол инактивирует как ДНК-зависимую, так и H4-зависимую автомодификацию PARP1, при этом эффект гос-

сипола в последнем случае — более выраженный. Поскольку в H4-зависимой автомодификации PARP1 не участвует ни один из цинковых пальцев PARP1, для действия госсипола эти домены не требуются.

Обсуждение результатов

На основаниях предыдущих исследований, была выказана гипотеза, что госсипол селективно связывается с BRCT-доменами двух молекул PARP1, вызывая димеризацию белка [19]. Такая белок-белковая сшивка госсиполом "фиксирует" PARP1 и не дает изменять конформацию внутри доменов; при этом PARP1 теряет свою каталитическую активность. Ряд исследований, указывает на то, что для активации PARP1, должно произойти конформационное изменение, в ходе которого происходит освобождение кармана активного центра от домена, "блокирующего" его [12, 24]. Это важное предположение о существовании ингибитора PARP1, действие которого не основано на ингибировании каталитической активности, могло бы положить основу для получения нового класса веществ. Чтобы проверить гипотезу об узнавании госсиполом BRCT-домена PARP1, мы использовали BRCT-мутанты. В наших экспериментах, разница между действием госсипола в отношении нативного и мутантного PARP1 не наблюдалась, что, указывает на то, что BRCT-домен не является мишенью действия госсипола. Расхождение полученных нами данных с предыдущими работами [19] вероятно, связано с тем, что в них был использован изолированный BRCT-домен, а в наших экспериментах рассматривали BRCT-домен в контексте всего белка PARP1. Поиск других мишеней действия госсипола в составе белка PARP1 был связан с использованием мутантов по Zn3-домену и другим цинковым пальцам. Исследования продемонстрировали, что ни один из цинковых пальцев также не является мишенью действия госсипола.

В дальнейшем, эксперименты могут быть направлены на поиск мишеней госсипола в других доменах PARP1. В рамках данной работы исследовали действие госсипола на мутантах только по четырем доменам PARP1: трём цинковым пальцам и BRCT, при этом неизученными остались другие области PARP1, например, домен WGR. Не исключено, что госсипол действует не на конкретный домен, а на интерфейс из нескольких доменов. По отдельности домены PARP1 не функционируют полноценно, и часто работают вместе, чтобы осуществить определенную функцию. Например, Zn3- и WGR-домены действуют кооперативно, в результате чего сначала происходит связывание с ДНК, а затем конформационная перестройка белка PARP1 и стимуляция каталитического домена [12]. Экспериментальный подход, предложенный в данной работе, позволяет исследовать различные вещества, ингибирующая активность которых направлена за пределы каталитического домена PARP1. Настоящее исследование способствует лучшему пониманию сложного механизма активации PARP и дальнейшему поиску терапевтических веществ — ингибиторов PARP1 с новыми активностями.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы" (соглашение Минобрнауки России № 14.604.21.0063, RFMEFI60414X0063) (эксперименты с ингибиторами PARP1 и грантом NIH GM58650 (отработка методик).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ame J.C., Spenlehauer C., de Murcia G.* The PARP superfamily // BioEssays. 2004. Vol. 26. N 8. P. 882–893

2. *Ludwig A., Behnke B., Holtlund J., Hilz H.* Immunoquantitation and size determination of intrinsic poly(ADP-ribose) polymerase from acid precipitates. An analysis of the in vivo status in mammalian species and in lower eukaryotes // J. Biol. Chem. 1988. Vol. 263. N 15. P.6993–6999.

3. *Yamanaka H., Penning C.A., Willis E.H., Wasson D.B., Carson D.A.* Characterization of human poly(ADP-ribose) polymerase with autoantibodies // J. Biol. Chem. 1988. Vol. 263. N 8. P. 3879–3883.

4. *Haince JF., McDonald D., Rodrigue A., Dery U., Masson J.Y., Hendzel M.J., Poirier G.G.* PARP1-dependent kinetics of recruitment of MRE11 and NBS1 proteins to multiple DNA damage sites // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283. N 2. P. 1197–1208.

5. *Thomas C., Tulin A.V.* Poly-ADP-ribose polymerase: machinery for nuclear processes // Mol. Aspects Med. 2013. Vol. 34. N 6. P. 1124–1137.

6. *Nishikimi M., Ogasawara K., Kameshita I., Taniguchi T., Shizuta Y.* Poly(ADP-ribose) synthetase. The DNA binding domain and the automodification domain // J. Biol. Chem. 1982. Vol. 257. N 11. P. 6102–6105.

7. *Kameshita I., Matsuda Z., Taniguchi T., Shizuta Y.* Poly (ADP-Ribose) synthetase. Separation and identification of three proteolytic fragments as the substrate-binding domain, the DNA-binding domain, and the automodification domain // J. Biol. Chem. 1984. Vol. 259. N 8. P. 4770–4776.

8. *Gibson B.A., Kraus W.L.* New insights into the molecular and cellular functions of poly(ADP-ribose) and PARPs // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2012. Vol. 13 N 7. P. 411–424.

9. *Langelier M.F., Servent K.M., Rogers E.E., Pascal J.M.* A third zinc-binding domain of human poly(ADP-ribose) polymerase-1 coordinates DNA-dependent enzyme activation // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283. N 7. P. 4105–4114.

10. *Tao Z., Gao P., Hoffman D.W., Liu H.W.* Domain C of human poly(ADP-ribose) polymerase-1 is important for enzyme activity and contains a novel zinc-ribbon motif // Biochemistry. 2008. Vol. 47. N 21. P. 5804–5813.

11. *Langelier M., Ruhl D. D., Planck J.L., Kraus W.L., Pascal J.M.* The Zn3 domain of human poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) functions in both DNA-dependent poly(ADP-ribose) synthesis activity and chromatin compaction // J. Biol. Chem. 2010. Vol. 285. N 24. P. 18877–18887.

12. *Langelier M.F., Planck J.L., Roy S., Pascal J.M.* Structural basis for DNA damage-dependent poly(ADP-ribosyl)ation by human PARP-1 // Science 2012. Vol. 336. N 6082. P. 728–732.

13. *Bork P., Hofman K., Buche P., Neuwal A.F., Altschu S.F., Koonin E.V.* A superfamily of conserved domains in DNA damage-responsive cell cycle checkpoint proteins // Faseb J. 1997. Vol. 11. N 1. P. 68–76.

14. *Masson M., Niedergang C., Schreiber V., Muller S., Menissier-de Murcia J., de Murcia G.* XRCC1 is specifically associated with poly(ADPribose) polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage // Mol. Cell. Biol. 1998. Vol. 18. N 6. P. 3563–3571.

15. *Masson M., Menissier-de Murcia J., Mattei, M.G., de Murcia G., Niedergang C.P.* Poly(ADP-ribose) polymerase interacts with a novel human ubiquitin conjugating enzyme: hUbc9 // Gene. 1997. Vol. 190. N 2. P. 287–296.

16. *Buki K.G., Bauer P.I., Hakam A., Kun E.* Identification of domains of poly(ADP-ribose) polymerase for protein binding and selfassociation // J. Biol. Chem. 1995. Vol. 270. N 7. P. 3370–3377.

17. *Nie J., Sakamoto S., Song D., Qu Z., Ota K., Taniguchi T.* Interaction of Oct-1 and automodification domain of poly(ADP-ribose) synthetase // FEBS Lett. 1998. Vol. 424. N 1–2. P. 27–32.

18. *Griesenbeck J., Ziegler M., Tomilin N., Schweiger M., Oei S.L.* Stimulation of the catalytic activity of poly(ADP-ribosyl) transferase by transcription factor Yin Yang 1 // FEBS Lett. 1999. Vol. 443. N 1. P. 20–24.

19. *Na Z., Peng B., Ng S., Pan S., Lee J.S., Shen H.M., Yao S.Q.* A small-molecule protein-protein interaction inhibitor of PARP1 that targets its BRCT domain // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2015. Vol. 54. N 8. P. 2515–2519.

20. *Malyuchenko N.V., Kotova E.Yu., Kulaeva O.I., Kirpichnikov M.P., Studitskiy V.M.* PARP1 inhibitors: Antitumor drug design // Acta Naturae. 2015. Vol. 7. N 3. P. 27–37.

21. *Gilbert N.E. O'Reilly J.E., Chang C.J., Lin Y.C., Brueggemeier R.W.* Antiproliferative activity of gossypol and gossypolone on human breast cancer cells // Life Sci. 1995. Vol. 57. N. 1. P. 61–67.

22. *Langelier M.F., Planck J.L., Servent K.M., Pascal J.M.* Purification of human PARPI and PARPI domains from *E.coli* for structural and biochemical analysis // Methods Mol. Biol. 2011. Vol. 780. P. 209–226.

23. *Kotova E., Pinnola A.D., Tulin A.V.* Small-molecule collection and high-throughput colorimetric assay to identify PARP-1 inhibitors // Methods Mol. Biol. 2011. Vol. 780. P. 491–516.

24. *Dawicki-McKenna J.M., Langelier M.F., DeNizio J.E., Riccio A.A., Cao C.D., Karch K.R., McCauley M., Steffen J.D., Black B.E., Pascal J.M.* PARP-1 activation requires local unfolding of an autoinhibitory domain // Mol. Cell. 2015. Vol. 60. N 5. P. 755–768.

Поступила в редакцию 04.07.2016
Принята в печать 02.09.2016

MOLECULAR BIOLOGY

EVALUATING PARP1 DOMAINS AS GOSSYPOL TARGETS

S. Gross[1], ***E.Yu. Kotova***[1], ***N.V. Maluchenko***[2,*], ***J.M. Pascal***[3], ***V.M. Studitsky***[1,2]

[1]Cancer Epigenetics Team, Fox Chase Cancer Center, Cottman Avenue 333, Philadelphia, PA 19111, USA;
[2] Department of Bioengineering, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory 1-12, Moscow, 119234, Russia
[3]Department of Biochemistry and Molecular Medicine, Université de Montréal, 2900 Boulevard Edouard-Montpetit, Montréal, QC H3C 3J7, Canada
[*]e-mail: mal_nat@mail.ru

Poly ADP-ribose polymerase 1 (PARP1) is an important enzyme, which is involved in DNA repair, replication, and transcription. Prospective anti-cancer drug gossypol inhibits human PARP1, but the mechanism of inhibition remains unknown. Previously it has been shown that gossypol interacts with purified BRCA1 C-terminus (BRCT) domain *in vitro*, but it remains unclear whether it inhibits PARP1 through BRCT domain in the context of the full length protein. Here it is shown that the BRCT domain within the full-length PARP1 protein is not required for inhibition of catalytic activity of PARP1 by gossypol. Our data obtained using a series of PARP1 mutations and H4-dependent pathway of PARP1 activation also show that Zinc fingers, the DNA binding domains of PARP1, are not involved in the inhibition of PARP1 catalytic activity by gossypol. Thus the likely candidate target(s) for gossypol action are other domains of PARP1 or interdomain linkers.

Keywords: *PARP1, olaparib, gossypol, BRCT domain, Zn3 domain, WGR-domain, poly ADP-ribosylation.*

Сведения об авторах

Гросс Скотт (*Gross Scott*) — студент лаборатории эпигенетики рака Центра исследований рака Фокс Чейз. E-mail: tug29564@temple.edu

Котова Елена Юрьевна — науч. сотр. лаборатории эпигенетики рака Центра исследований рака Фокс Чейз. E-mail: elena.kotova@fccc.edu

Малюченко Наталия Валериевна — канд. биол. наук, доцент кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-938-00-05; e-mail: mal_nat@mail.ru

Паскаль Джон Мэттесон (*Pascal John Matteson*) — канд. биол. наук, проф. кафедры биохимии университета Монреаля. E-mail: john.pascal@umontreal.ca

Студитский Василий Михайлович — докт. биол. наук, вед науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-938-22-91; e-mail: vasily.studitsky@fccc.edu