

УДК 577.2.04

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ СТЕРЕОСПЕЦИФИЧНОСТИ ТРАНСАМИНАЗЫ ИЗ *DESULFOHALOBIUM RETBAENSE* К D-ЛЕЙЦИНУ ПО ДАННЫМ МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

М.Г. Хренова<sup>1,2\*</sup>, С.А. Завьялова<sup>1,2</sup>, Е.Ю. Безсуднова<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН; <sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова: \*e-mail: wasabiko@icc.chem.msu.ru)

Представлены результаты молекулярно-динамического исследования молекулярного механизма экспериментально наблюдаемой специфичности трансаминазы из *Desulfohalobium retbaense* (Dret) к D-изомеру лейцина. На основании данных о первичной последовательности, а также сведениях о кристаллической структуре родственных ферментов построена полноатомная трехмерная модель Dret. Анализ молекулярно-динамических траекторий показал, что при образовании предреакционного комплекса фермента с D-лейцином  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>-группа субстрата образует стабильные водородные связи с остатком Arg54\*, что способствует правильной ориентации субстрата в активном центре. Формирование такого комплекса с L-изомером лейцина приводит к разрушению этих водородных связей и нарушению структуры активного центра в целом.

**Ключевые слова:** молекулярное моделирование, молекулярная динамика, стереоспецифичность, трансаминазы D-аминокислот.

Трансаминазы (аминотрансферазы, ЕС 2.6.1) – пиридоксаль-5'-фосфат (PLP)-зависимые ферменты, катализирующие стереоселективный перенос аминогруппы от аминокислоты/амин на кетокислоту/кетон с образованием новых кетокислоты/кетона и аминокислоты/амин [1, 2]. В клетке трансаминазы регулируют метаболизм аминокислот и транспорт азота. Стереоселективность катализа трансаминаз определяется геометрией их активного центра и положением молекулы субстрата относительно кофактора PLP, ковалентно связанного с каталитическим остатком лизина в активном центре фермента. Активный центр трансаминаз представляет собой два кармана (большой и малый), образованные остатками двух субъединиц, поэтому наименьшей функциональной единицей трансаминаз служит димер [1–3]. Каталитическое переаминирование происходит в две стадии: на первой стадии аминокислотный субстрат превращается в кетокислоту/кетон, при этом PLP переходит в форму пиридоксамин-5'-фосфата (PMP) (первая полуреакция), на второй стадии кетосубстрат превращается в новую аминокислоту/амин, при этом кофактор возвращается в исходную PLP-форму (вторая полуреакция) [3, 4].

Трансаминазы IV типа укладки PLP-связывающего домена разнообразны по субстратной специфичности и включают ферменты, специфичные как к D-, так и к L-аминокислотам. Среди ферментов IV типа укладки выделяют семейства трансаминаз D-аминокислот (DAAT), трансаминаз разветвленных L-аминокислот (BCAT) и трансаминаз, специфичных к (R)-первичным аминам ((R)-TA) [2]. В 2010 г. авторы [5] проанализировали строение активных центров ферментов данных семейств и выявили характеристические мотивы в последовательностях трансаминаз, которые формируют активный центр и определяют различия в специфичности трансаминаз из разных семейств при сходстве третичной структуры. Сделанные выводы позволили далее предсказывать субстратную специфичность по последовательности у трансаминаз IV типа укладки.

Для канонических BCAT мотивы 1 и 2 определяли как 31-YxxxxF[ED]Gx[KR] и 95-YxR...107-[LMVI]G[VL] соответственно (нумерация аминокислот соответствует BCAT из *Escherichia coli*, PDB ID 1IK);

для канонических DAAT мотивы 1 и 2 определяли как 26-FxxxxY[ED] и 86-HxY...98-RxH соответственно (нумерация аминокислот соответ-

ствуется DAAT из *Bacillus sp. (strain YM-1)* (PDB ID 3DAA, далее bsDAAT);

для (*R*)-TAs мотивы 1 и 2 определяли как 53-NxxxxYD[VT]x[STANP] и 113-[FY]V[EQAWN]...125-[VLRTD][RKFGP][GES][STANER] соответственно (нумерация аминокислот соответствует (*R*)-ТА из *Nectria haematococca*, PDB ID 4CMD).

Однако впоследствии были обнаружены трансаминазы со смешанным типом активности, у которых в характеристических мотивах наблюдались замены в одной или нескольких ключевых позициях [6, 7].

В результате выравнивания в программе BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) последовательности изучаемой нами трансаминазы из *Desulfohalobium retbaense* (Dret) (UniProtID: C8X272) и последовательностей, охарактеризованных трансаминаз IV типа укладки, обнаружено, что Dret имеет в мотиве 1 остатки 54-RxxxFETLK-63, а в мотиве 2 остатки 114-IVA...ADF-130, что позволяет отнести Dret к трансаминазам со смешанным типом активности, способным к реакциям как с L-аминокислотами по BCAT-типу, так и с R-аминами по (*R*)-ТА-типу. В настоящей работе проведено построение трехмерной модели гомодимера трансаминазы Dret, а также молекулярно-динамическое моделирование фермент-субстратных комплексов Dret с D- и L-изомерами лейцина для определения факторов стереоспецифичности этого фермента.

### Результаты и их обсуждение

Нами был получен синтетический ген, кодирующий Dret, и выделена рекомбинантная форма Dret по методике, описанной в [8]. Согласно результатам гель-фильтрации, Dret представляет собой димер с молекулярной массой около 70 кДа. Спектр поглощения выделенного Dret имеет два пика с максимумами на 280 и 413 нм, последний соответствует поглощению PLP-формы Dret. Оценку специфичности фермента к энантиомерам лейцина проводили спектрофотометрически по убыли поглощения на 413 нм (по первой полуреакции, которая сопровождается переходом E-PLP-формы в E-PMP-форму). При добавлении D-лейцина (20 мМ) в раствор Dret (70 мкМ) в спектре поглощения наблюдалось снижение интенсивности на 413 нм и появлялось поглощение на 320 нм, что соответствует убыли E-PLP формы и накоплению E-PMP формы Dret. При добавлении L-лейцина (20 мМ) к Dret (70 мкМ) изменений в спектре поглощения на 413 нм не

происходило. Константа скорости полуреакции Dret с D-лейцином в 50 мМ Tris-HCl-буфере, содержащем 50 мМ NaCl (pH 8,0) при 40 °C составила 0,006 с<sup>-1</sup>. Полуреакции с L-лейцином не наблюдались.

Проведенные эксперименты показали, что Dret активен с D-лейцином, но не активен с L-лейцином. Из состава характеристических мотивов 1 и 2 специфичность Dret по DAAT-типу не очевидна, поэтому далее мы провели моделирование структуры Dret в целях проведения анализа геометрии связывания D- и L-лейцина в холо-форме Dret, содержащей PLP, ковалентно связанный с боковой цепью лизина, в форме протонированного основания Шиффа.

В базе структурных данных PDB отсутствует трехмерная структура Dret, поэтому для построения ее трехмерной модели были отобраны шаблоны родственных ферментов с доступными трехмерными структурами. Процедуру поиска структурных шаблонов для моделирования структуры Dret проводили с использованием методов распознавания укладки HHPred [9] и PHYRE2 [10] и программы BLAST. Выбор шаблона проводили с учетом экспериментальных данных о расположении остатков центра связывания субстрата у трансаминаз [3, 5]. В результате поиска в качестве шаблонов для построения модели Dret были выбраны следующие структуры:

(*R*)-ТА из *Nectria haematococca* (PDB ID 4CMD [11], разрешение 1,68 Å, остатки 7–44 для моделирования N-конца Dret, идентичность 22 %);

DAAT из *Bacillus sp. YM-1* (PDB ID 3DAA [12], остатки 45–302, разрешение 1,65 Å, идентичность 26%);

BCAT из *Geoglobus acetivorans* (PDB ID 5E25 [13], остатки 302–314, разрешение 2,2 Å, идентичность 28%).

Необходимое для моделирования по гомологии выравнивание аминокислотных последовательностей проводили с помощью программы T-COFFEE [14], редактировали выравнивание в программе Jalview [15]. На основе данного выравнивания осуществляли моделирование структуры Dret с использованием программы MODELLER (<https://salilab.org/modeller/>). Протокол MODELLER для моделирования гомологии был выбран в соответствии с инструкцией (<https://salilab.org/modeller/tutorial/advanced.html>). Конформации петель были выбраны с помощью программы Mustguseal (<https://biokinet.belozersky.msu.ru/mustguseal>). Расположение спирали на N-конце (остатки 1–44), полученное при модели-

ровании структуры Dret, совпало с положением спирали 7-DQSYLEALLA-16, предсказанным в программе JPred (<http://www.compbio.dundee.ac.uk/jpred/>). Построенные модели проверяли с помощью программы WHAT IF [16].

Согласно результатам моделирования, Dret представляет собой альфа-/бета-глобулярный белок, гомодимер с двумя активными центрами, образованными симметрично остатками двух субъединиц с кофактором PLP, ковалентно связанным с каталитическим остатком Lys175 в каждом активном центре (рис. 1). Активный центр состоит из двух карманов для связывания субстрата. Остатки со стороны фосфатной группы PLP образуют малый Р-карман, остатки со стороны фенольной группы PLP образуют большой О-карман. В формировании активного центра участвуют также остатки междоменной петли (Met145-Gly156), соединяющей домены первой субъединицы, и остатки межсубъединичной петли второй субъединицы (Gly122\*-Gln135\*) (здесь и далее звездочкой (\*) маркированы остатки от второй субъединицы, рис. 1).

Поскольку в формировании активного центра ТА участвуют остатки двух субъединиц, для реализации функции фермента крайне важно, чтобы димер был стабилен. Анализ полученной структуры показал, что поддержание стабильности димера Dret обеспечивается большим количеством водородных связей (суммарно 44 межсубъединичных взаимодействия) и гидрофобных

контактов (30 гидрофобных контактов). Особую роль в установлении гидрофобных контактов между субъединицами играют остатки N-конца субъединиц, образующие аналог мотива «лейциновой застежки». Данный мотив, уникальный для последовательности Dret в ряду гомологичных трансаминаз, характеризуется следующими межсубъединичными контактами: Leu43–Leu43\*, Leu44–Leu44\*, Ile45–Leu43\*, Leu51–Leu44\*. Водородные связи между заряженными остатками субъединиц (солевые мостики) также стабилизируют димер: Lys167–Asp178\*, Asp178–Lys167\*, Arg187–Glu132\* и Glu132–Arg187\*. Таким образом, стабильность димера обусловлена как гидрофобными, так и электростатическими взаимодействиями.

Сравнение структуры Dret со структурой канонической bsDAAT (PDB ID 3DAA) показало ряд различий в строении активных центров. О-карман Dret содержит неполярный остаток Phe59, а в активном центре bsDAAT в этой позиции находится Tyr31, который определяет специфичность к D-аминокислотам и вместе с остатками His100\* и Arg98\* образует «карбоксилатную ловушку» для  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>-группы D-аминокислоты в О-кармане [12]. Остатки Tyr31, His100\* и Arg98\* у DAAT консервативны и входят в состав характеристических мотивов. В случае Dret на месте His100\* располагается остаток Ala128\*, на месте Arg98\* – Phe126\*. Однако функциональная группа Arg54\* в О-кармане активного центра Dret занимает

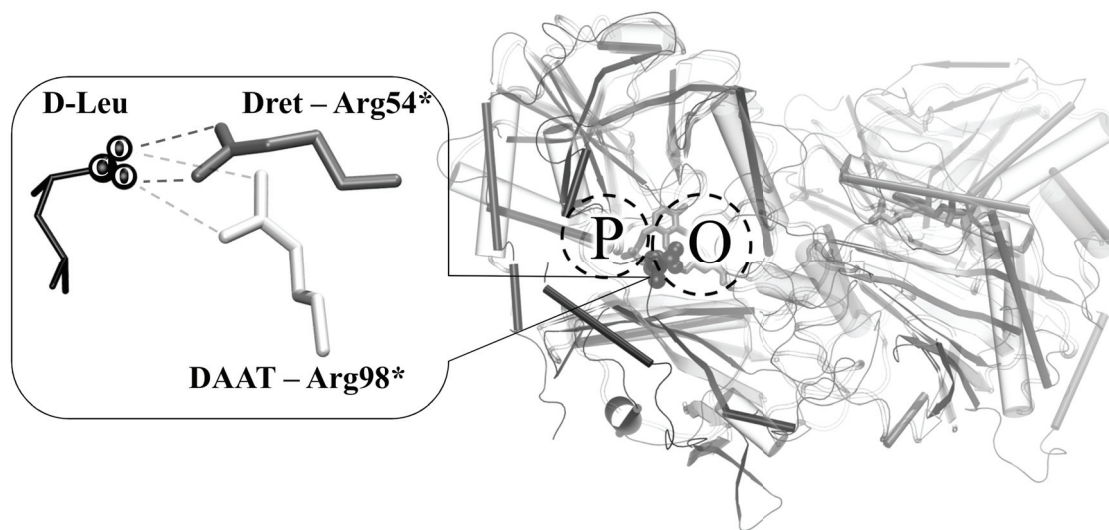


Рис. 1. Суперпозиция кристаллической структуры bsDAAT (PDB ID 3DAA) и структуры Dret, полученной в результате молекулярно-динамического расчета, темным обозначена первая субъединица Dret, светлым – вторая субъединица, полупрозрачным обозначен димер bsDAAT. На вставке показаны аминокислотные остатки аргинина в обоих ферментах, обеспечивающие связывание с карбоксильной группой D-лейцина (только тяжелые атомы) за счет образования водородных связей (пунктиром)

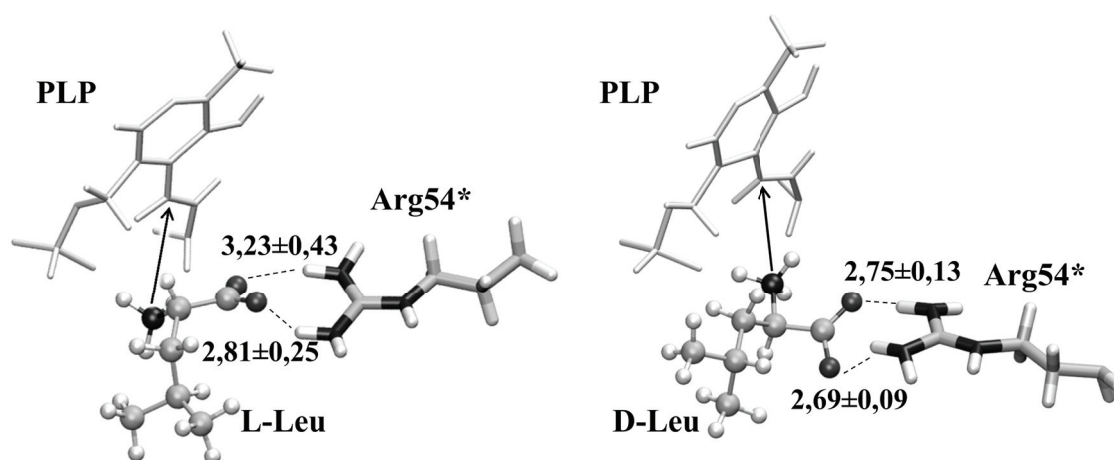


Рис. 2. Сравнение активных центров Dret с D- и L-лейцинами. Пунктиром показаны водородные связи, стрелками – направление от атома азота субстрата к атому углерода PLP, образующим ковалентную связь в ходе реакции (два атома, на расстояние между которыми накладывается ограничивающий потенциал). Длина водородных связей между тяжелыми атомами субстрата и остатка аргинина в ходе реакции представлена в Å

сходное пространственное положение с положением функциональной группы Arg98\* в bsDAAT (рис. 1). Это, вероятно, обеспечивает связывание  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>-группы и формирует сайт связывания субстрата по D-типу. В построенной модели Dret Р-карман образован только гидрофобными остатками, что исключает возможность расположения там  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>-группы субстрата.

Для оценки поведения Dret в растворе были проведены расчеты методом классической молекулярной динамики (МД). В полученную модель фермента Dret добавляли атомы водорода, после чего в активный центр помещали кофактор PLP и проводили его ковалентную сшивку с остатком Lys175. В активный центр одной из субъединиц добавляли субстрат – D- или L-лейцин. При расчете методом МД для описания белковой макромолекулы и субстрата использовали силовое поле CHARMM [17], для описания PLP – силовое поле CGenFF [18], для описания молекул воды – силовое поле TIP3P [19]. Поскольку требовалось описание протонированного основания Шиффа и остатка лизина, в настоящей работе разработаны дополнительные параметры силового поля, позволяющие модифицировать оба фрагмента и добавить требуемую ковалентную связь между ними. Полученная система сольватировалась молекулами воды и нейтрализовалась ионами натрия, ее размер составил  $113 \times 160 \times 110$  Å<sup>3</sup> (60 223 атома). Расчеты проводили в ансамбле NPT при 1 атм и 300 К в программном пакете NAMD [20]. Для моделирования предреакционного комплекса накладывали дополнительный гармонический

потенциал с  $k = 10$  ккал·моль<sup>-1</sup>·Å<sup>-2</sup> и  $R_0 = 2,8$  Å между атомом азота субстрата и атомом углерода PLP, образующим ковалентную связь с субстратом в ходе реакции. Для каждой из систем проводили расчет траектории 2 нс. При статистической обработке данных в качестве критерия водородной связи между тяжелыми атомами использовали расстояние 3,2 Å.

При анализе МД-траекторий комплексов Dret с D- и L-лейцинами остаток Arg54\* образует с  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>-группой две стабильные водородные связи. При дальнейшем введении ограничивающего потенциала для моделирования предреакционного комплекса динамическое поведение связей различается в системах с разными стереоизомерами лейцина. В системе Dret с D-лейцином сохраняются водородные связи между Arg54\* и  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>-группой субстрата; они наблюдаются на протяжении всей траектории и характеризуются короткими расстояниями между тяжелыми атомами ( $2,69 \pm 0,09$  и  $2,75 \pm 0,13$  Å) (рис. 2). При координации  $\alpha$ -COO<sup>-</sup> в О-кармане боковая цепь D-лейцина располагается в гидрофобном Р-кармане Dret, что также способствует стабилизации предреакционного комплекса Dret и D-лейцина.

Для системы Dret с L-лейцином характерно увеличение длин связей между Arg54\* и  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>. Одна из водородных связей характеризуется расстоянием  $2,82 \pm 0,25$  Å между тяжелыми атомами и сохраняется в 93% траектории, другая наблюдается только в половине кадров траектории, а ее длина составляет  $3,23 \pm 0,43$  Å. Разрыв одной из связей между Arg54\* и  $\alpha$ -COO<sup>-</sup> приводит к



формированию новой водородной связи между His53\* и  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>-группой L-лейцина, что приводит к нарушению структуры активного центра.

### Заключение

Построена трехмерная полноатомная модель гомодимера трансаминазы Dret на основе трехмерных структур родственных ферментов и анализа гомологии. Показано, что формирование стабильного гомодимера обусловлено образованием гидрофобных контактов и водородных связей между субъединицами. Отсутствие в активном центре Dret консервативного для DAAT остатка Arg98\* предположительно компенсируется остатком Arg54\*, функциональная группа которого занимает то же пространственное положение, что и функциональная группа Arg98\* в bsDAAT. В предреакционном комплексе этот остаток образует две стабильные водородные связи с D-лейцином. В случае L-лейцина сохраняется только одна из двух связей и образуется новая водородная связь между  $\alpha$ -COO<sup>-</sup>-группой L-лейцина и His53\*. Это, по-видимому, приво-

дит к нарушению структуры активного центра и объясняет отсутствие химической реакции с L-лейцином. Связывание D-лейцина остатками активного центра Dret способствует эффективным превращениям субстрата по установленному для трансаминаз механизму.

Авторы выражают благодарность Татьяне Владимировне Ракитиной за клонирование и разработку системы экспрессии рекомбинантной трансаминазы Dret.

При проведении работы использовали оборудование Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова [21].

Работы по наработке и выделению активного рекомбинантного фермента и анализу его активности проводили на средства Российского научного фонда (проект № 19-14-00164). МД-исследования проводили при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Конфликта интересов нет.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Eliot A.C., Kirsch J.F.* // Ann. Rev. Biochem. 2004. Vol. 73. P. 383 (DOI: 10.1146/annurev.biochem.73.011303.074021).
2. *Steffen-Munsberg F., Vickers C., Kohls H., Land H., Mallin H., Nobili A., Skalden L., van den Bergh T., Joosten H.J., Berglund P., Höhne M., Bornscheuer U.T.* // Biotechnol. Adv. 2015. Vol. 33. P. 566 (DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.12.012).
3. *Безсуднова Е.Ю., Бойко К.М., Попов В.О.* // Успехи биологической химии. 2017. Т. 57. С. 33 [*Bezsudnova E.Yu., Boyko K.M., Popov V.O.* // Biochemistry (Moscow) 2017. Vol. 82. N 13. P. 1572 (DOI: 10.1134/S0006297917130028)].
4. *Inoue Y., Kuramitsu S., Inoue K., Kagamiyama H., Hiromi K., Tanase S., Morino Y.* // J. Biol. Chem. 1989. Vol. 264. P. 9673.
5. *Höhne M., Schätzle S., Jochens H., Robins K., Bornscheuer U.T.* // Nat. Chem. Biol. 2010. Vol. 6. P. 807 (DOI: 10.1038/nchembio.447).
6. *Pavkov-Keller T., Strohmeier G.A., Diepold M., Peeters W., Smeets N., Schürmann M., Gruber K., Schwab H., Steiner K.* // Sci. Rep. 2016. Vol. 6. P. 38183 (DOI: 10.1038/srep38183).
7. *Bezsudnova E.Y., Dibrova D.V., Nikolaeva A.Y., Rakitina T.V., Popov V.O.* // J. Biotechnol. 2018. Vol. 271. P. 26 (DOI: 10.1016/j.jbiotec.2018.02.005).
8. *Boyko K.M., Gorbacheva M.A., Rakitina T.V., Korgenevskiy D.A., Vanyushkina A.A., Kamashchev D.E., Lipkin A.V., Popov V.O.* // Acta Crystallogr. F. 2015. Vol. 71. P. 24 (DOI: 10.1107/S2053230X14025333).
9. *Zimmermann L., Stephens A., Nam S.Z., Rau D., Kübler J., Lozajic M., Gabler F., Söding J., Lupas A.N., Alva V.* // J. Mol. Biol. 2018. Vol. 430. P. 2237 (DOI: 10.1016/j.jmb.2017.12.007).
10. *Kelley L.A., Mezulis S., Yates C.M., Wass M.N., Sternberg M.J.* // Nat. Protoc. 2015. Vol. 10. P. 845 (DOI: 10.1038/nprot.2015.053).
11. *Sayer C., Martinez-Torres R.J., Richter N., Isupov M.N., Hailes H.C., Littlechild J.A., Ward J.M.* // FEBS J. 2014. Vol. 281. P. 2240 (DOI: 10.1111/febs.12778).
12. *Peisach D., Chipman D.M., Van Ophem P.W., Manning J.M., Ringe D.* // Biochemistry 1998. Vol. 37. P. 4958 (DOI: 10.1021/bi972884d).
13. *Isupov M.N., Boyko K.M., Sutter J.M., James P., Sayer C., Schmidt M., Schönheit P., Nikolaeva A.Y., Stekhanova T.N., Mardanov A.V., Ravin N.V., Bezsudnova E.Y., Popov V.O., Littlechild J.A.* // Front. Bioeng. Biotechnol. 2019. Vol. 7. P. 7 (DOI: 10.3389/fbioe.2019.00007).
14. *Notredame C., Higgins D.G., Heringa J.* // J. Mol. Biol. 2000. Vol. 302. P. 205 (DOI: 10.1006/jmbi.2000.4042).
15. *Waterhouse A.M., Procter J.B., Martin D.M., Clamp M., Barton G.J.* // Bioinformatics. 2009. Vol. 25. P. 1189 (DOI: 10.1093/bioinformatics/btp033).
16. *Friend G.* // J. Mol. Graph. 1990. Vol. 8. P. 52 (DOI: 10.1016/0263-7855(90)80070-v).
17. *Yu W., He X., Vanommeslaeghe K., MacKerell A.D.* // J. Comput. Chem. 2012. Vol. 33. P. 2451 (DOI: 10.1002/jcc.23067).
18. *Vanommeslaeghe K., Hatcher E., Acharya C.* // J. Comput. Chem. 2010. Vol. 31. P. 671 (DOI: 10.1002/jcc.21367).
19. *Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D., Impey R.W., Klein M.L.* // J. Chem. Phys. 1983. Vol. 79. P. 926 (DOI: 10.1063/1.445869).

20. Phillips J.C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R.D., Kalé L., Schulten K. // J. Comput. Chem. 2005. Vol. 26. P. 1781 (DOI: 10.1002/jcc.20289).
21. Voevodin V.I., Antonov A., Nikitenko D., Shvets P., Sobolev S., Sidorov I., Stefanov K., Voevodin V.I., Zhumatiy S. // Supercomput. Front. Innov. 2019. Vol. 6. P. 4 (DOI: 10.14529/jsfi190201).

Поступила в редакцию 10.01.2020  
Получена после доработки 12.01.2020  
Принята к публикации 20.01.2020

**MOLECULAR MECHANISM OF STEREOSPECIFICITY  
OF TRANSAMINASE FROM *DESULFOHALOBIUM RETBAENSE*  
TO D-LEUCINE REVEALED BY MOLECULAR DYNAMICS MODELING**

**M.G. Khrenova<sup>1,2\*</sup>, S.A. Zavyalova<sup>1,2</sup>, E.Y. Bezsudnova<sup>1</sup>**

(<sup>1</sup> *A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences;* <sup>2</sup> *Lomonosov Moscow State University;* \**e-mail: wasabiko@lcc.chem.msu.ru*)

The paper presents the results of a molecular dynamics study of the molecular mechanism of experimentally observed specificity of transaminase from *Desulfohalobium retbaense* (Dret) to the D-isomer of leucine. A full-atom 3D model of Dret is constructed based on the primary sequence and crystal structures of related enzymes. Analysis of molecular dynamics trajectories demonstrated that the  $\alpha$ -COO-group of D-leucine forms stable hydrogen bonds with the Arg54\* in the enzyme-substrate complex, that contributes to the proper orientation of the substrate in the active site. The formation of such complex with the L-isomer of leucine leads to the destruction of these hydrogen bonds and disruption of the structure of the entire active site.

**Ключевые слова:** molecular modeling, molecular dynamics, stereospecificity, D-amino-acid transaminase.

**Сведения об авторах:** *Хренова Мария Григорьевна* – вед. науч. сотр. лаборатории химической кибернетики кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, руководитель группы молекулярного моделирования ФИЦ Биотехнологии РАН, докт. физ.-матем. наук (wasabiko@lcc.chem.msu.ru); *Завьялова Софья Александровна* – аспирант кафедры химической энзимологии МГУ имени М.В. Ломоносова (zavyalovasonya@yandex.ru); *Безсуднова Екатерина Юрьевна* – ст. науч. сотр. лаборатории инженерной энзимологии ФИЦ Биотехнологии РАН, канд. хим. наук (eubez@yandex.ru).