

БИОИНФОРМАТИКА И МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

УДК 577+57.012

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНОГО ПИРИДОКСИНА С АКТИВНЫМ ЦЕНТРОМ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

Р.Х. Аюпов, Н.И. Акберова, Д.С. Тарасов

Аннотация

Выявление механизма взаимодействия ферментов с лигандами в активном центре необходимо для эффективного поиска новых лекарственных средств и целенаправленного изменения существующих. В настоящей работе было проведено компьютерное моделирование реакции между производным пиридоксина и каталитической триадой активного центра ацетилхолинэстеразы для выяснения роли сайтов активного центра при взаимодействии с ингибитором. Изучено влияние на реакцию взаимодействия следующих сайтов активного центра: периферийный анионный сайт, анионный сайт, оксианионная дыра, омега-петля, ацильный карман. Моделирование проводилось в программе PC GAMESS методом AM1, в качестве координаты реакции было выбрано расстояние между углеродом карбамоилированного фрагмента производного пиридоксина и кислородом гидроксильной группы аминокислотного остатка серина Ser203 каталитической триады, изменение координат происходило с шагом 0.2 Å. Наибольшее и наименьшее значения энергетических пиков равны 54.24 и 45.52 ккаль/моль соответственно. При моделировании контрольной реакции каталитической триады с производным пиридоксина без окружения энергетический пик составил 49.12 ккаль/моль. Полученные значения энергетических барьеров велики, что, возможно, связано с тем, что при моделировании реакции учитывалось влияние отдельных частей активного центра, а не всего фермента.

Ключевые слова: молекулярное моделирование, ацетилхолинэстераза (АХЭ), производные пиридоксина, ингибиторы АХЭ.

Введение

Ацетилхолинэстераза (АХЭ) – фермент из класса холинэстераз – содержится в синапсах и катализирует гидролиз нейромедиатора ацетилхолина до холина и остатка уксусной кислоты. Ингибиторы АХЭ – фосфорорганические соединения – мощные токсины, воздействие которых на организм человека обычно приводит к смерти от судорог дыхательной мускулатуры [1].

Основной интерес к данному классу ферментов связан с тем, что признаки нарушения холинергических систем проявляются при миастеническом синдроме, при нейродегенеративных заболеваниях, в том числе при болезни Альцгеймера.

Основными нейропатологическими признаками болезни Альцгеймера являются снижение концентрации ацетилхолина в синапсах, что приводит к нарушению передачи нервного сигнала. Ингибирование АХЭ приводит к продлению действия ацетилхолина на рецептор. При нейродегенеративных заболеваниях отмечено снижение активности АХЭ, при этом функцию гидролиза ацетилхолина берет на себя бутирилхолинэстераза (БХЭ). Исходя из этого, помимо ингибиторов, селективных для АХЭ, в качестве перспективных терапевтических агентов рассматриваются ингибиторы, как селективные для БХЭ, так и действующие на обе холинэстеразы [2–12].

В медицине в качестве лекарственных препаратов, ингибирующих активность АХЭ, используют вещества из разных классов. Их принципиальное различие заключается в типе связывания с ацетилхолинэстеразой. Такрин, велнакрин, донепезил и гуперзин являются нековалентными ингибиторами с высокой аффинностью; метрифонат образует необратимое ковалентное соединение с субстратом. Такрин и велнакрин – бесконкурентные ингибиторы, донепезил имеет конкурентные и бесконкурентные свойства, галантамин является конкурентным ингибитором [13]. Действие метрифоната начинается с конкурентного ингибирования, но со временем трансформируется в неконкурентное ингибирование [14]. Различия в длительности действия и метаболизме определяют режим дозирования и вероятность лекарственного взаимодействия.

Несмотря на такой большой спектр препаратов, существует острая необходимость в лекарствах, специфически ингибирующих активность тех или иных холинэстераз и обладающих минимальными побочными эффектами. В предыдущем исследовании [15] был проведен докинг холинэстераз с производными пиридоксина, синтезированными в Химическом институте им. А.М. Бутлерова КФУ [16], который показал, что они обладают антихолинэстеразной активностью. Целью настоящего исследования было выяснение роли сайтов активного центра АХЭ в процессе взаимодействия с ингибиторами. В связи с этой основной задачей работы явилось компьютерное моделирование реакции взаимодействия каталитической триады АХЭ мыши 2JEY [17] с производным пиридоксина в различном аминокислотном окружении.

Рассматриваемый в настоящей работе процесс (рис. 1) ингибирования АХЭ представляет собой простейший случай двухстадийной бимолекулярной реакции с образованием на первой стадии комплекса Михаэлиса, который на второй стадии распадается на карбамоилированную холинэстеразу и производное пиридоксина без карбамоилированной группировки.

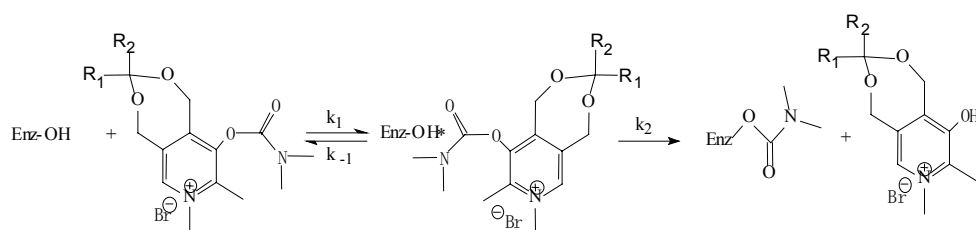


Рис. 1. Общая схема реакции ингибирования АХЭ производным пиридоксина [16]

Сначала за счет нековалентного взаимодействия образуется комплекс Михаэлиса, далее происходит перенос карбамоилированной группы ингибитора на гидроксильную группу Ser203 каталитической триады активного центра, связь образуется между углеродом карбамоилированной группы и кислородом гидроксильной группы.

Материалы и методы

В работе использовали АХЭ мыши 2JEУ и производное пиридоксина *a* с брутто-формулой $C_{13}H_{19}N_2O_4$ (примерные ширина и длина равны 8.36 и 9.02 Å соответственно (рис. 2)). Ингибитор *a* – родоначальник производных пиридоксина, отличающихся друг от друга длиной радикального хвоста, расположенных в точках P₁ и P₂ [16]. Используемые в настоящей работе координаты ингибитора были получены ранее при проведении докинга [15]. В ходе моделирования проводилась фиксация атомов, образующих пептидную связь C–N, поскольку в белках она является жесткой структурой и вращение вокруг нее затруднено.

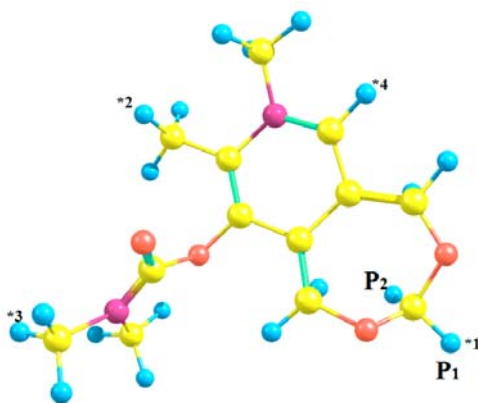


Рис. 2. Структура ингибитора *a* (P₁ и P₂ – места присоединения различных радикалов, Звездочкой указаны атомы, по которым были измерены параметры ингибитора)

Моделирование реакции проводилось в программе PC GAMESS методом AM1 [18], в качестве координаты реакции было выбрано расстояние между углеродом карбамоилированного фрагмента производного пиридоксина и кислородом гидроксильной группы аминокислотного остатка Ser203 каталитической триады, равное 6.44 Å, координаты изменяли шагом 0.2 Å. Предпоследний шаг моделирования был связан с передвижением атома Н гидроксильной группы Ser203 к О, связывающему остов ингибитора с карбамоилированным фрагментом.

Для автоматизации работы и контроля за результатами расчетов использовали программу, написанную на языке Python версии 2.6 [19]. Для визуализации результатов подсчета использовали программу Chemcraft 1.5 [20], которая позволяет проследить изменение координат атомов молекул на каждой стадии подсчета в программе PC GAMESS.

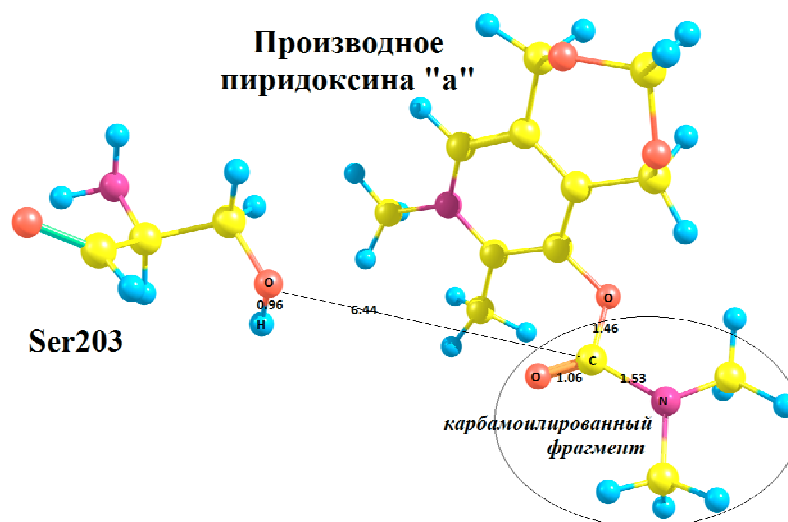


Рис. 3. Начальное положение Ser203 и производного пиридоксина *a*

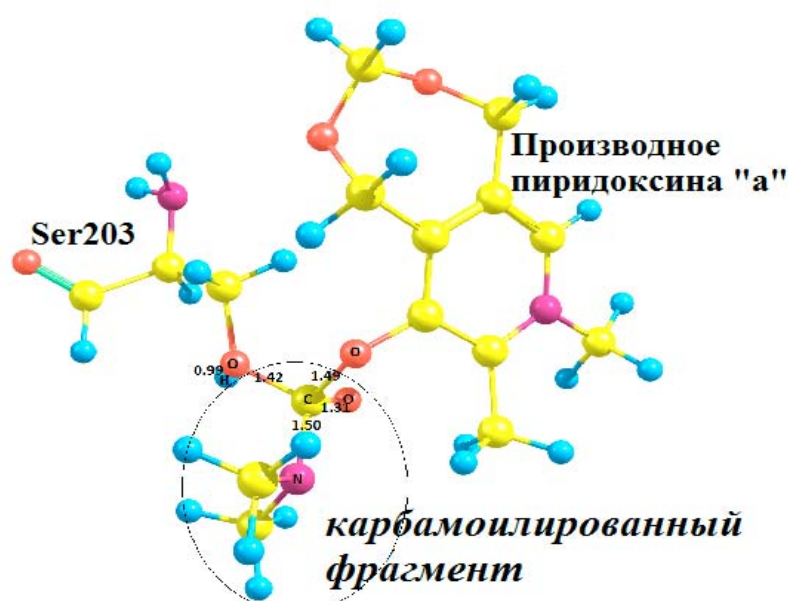


Рис. 4. Положение молекул при энергетическом пике реакции

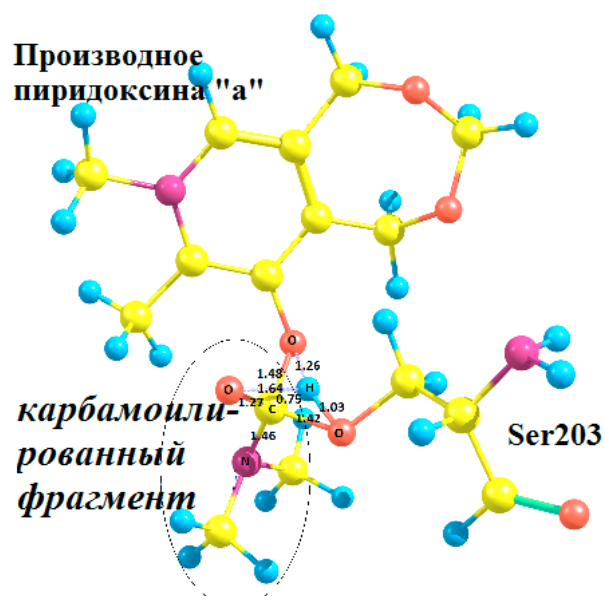


Рис. 5. Перенос атома Н с гидроксильной группы Ser203 на О производного пиридоксина

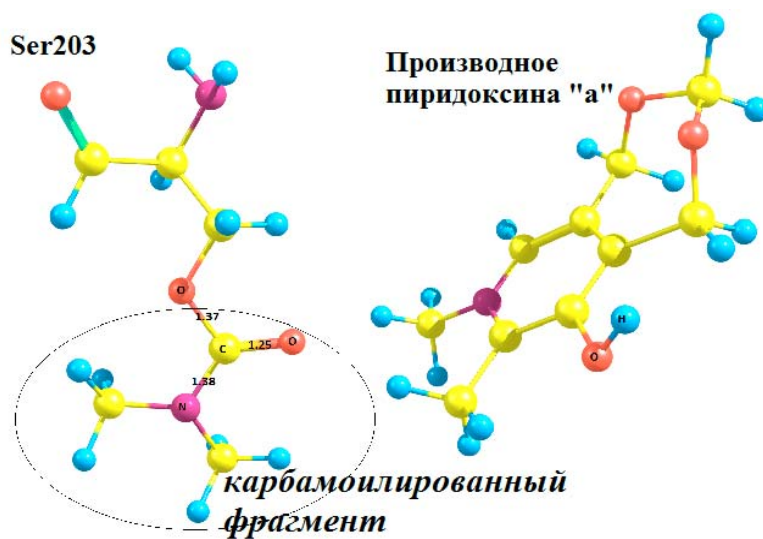


Рис. 6. Итоговое положение молекул после реакции

Табл. 1

Классификация аминокислотных остатков активного центра АХЭ

Участки активного центра	Неполярные аминокислотные остатки	Полярные незаряженные аминокислотные остатки при pH 7	Полярные аминокислотные остатки	
			+, pH > 7	-, pH < 7
Каталитическая триада	–	Ser203	His447	Glu334
Анионный сайт	Trp86, Gly448, Ile451	Tyr133	–	Glu202
Периферийный анионный сайт	Trp286	Tyr124, Ser125, Tyr337, Tyr341	–	Asp74
Ацильный карман	Trp236, Phe295, Phe297, Phe338	–	–	
Омега петля	Pro88	Thr83, Asn87	–	
Оксианионная дыра	Gly121, Gly122, Ala204	–	–	

Табл. 2

Влияние разного аминокислотного окружения на энергетический барьер реакции (E , ккаль/моль)

Реакция	Участники реакции		E	ΔE
	Постоянные	Окружение		
I	Каталитическая триада и производное пиридоксина <i>a</i>	–	49.12	0
II		Анионный сайт	54.24	5.12
III		Периферийный анионный сайт	49.92	0.8
IV		Ацильный карман	45.52	–3.6
V		Омега-петля	48	–1.12
VI		Оксианионная дыра	54.2	5.08

Результаты и их обсуждение

Было смоделировано 6 реакций между углеродом карбамоилированного фрагмента производного пиридоксина и кислородом гидроксильной группы аминокислотного остатка Ser203 каталитической триады АХЭ в разном аминокислотном окружении. В качестве окружения использованы 5 известных сайтов активного центра [1, 21–23], состав и свойства аминокислотных остатков которых представлены в табл. 1.

В табл. 2 представлены значения энергетического барьера реакции, отражены его изменения (ΔE) под влиянием изучаемых сайтов активного центра АХЭ.

Реакция I. Первая реакция выступала контролем, так как она была смоделирована без какого-либо окружения, и, сравнивая ее с другими реакциями, можно оценить вклад сайтов активного центра АХЭ в процесс взаимодействия каталитической триады и ингибитора (рис. 3–6). Каталитическая триада состоит из трех аминокислотных остатков: Ser203, His447, Glu334. Энергетический пик реакции равен 49.12 ккал/моль (рис. 7).

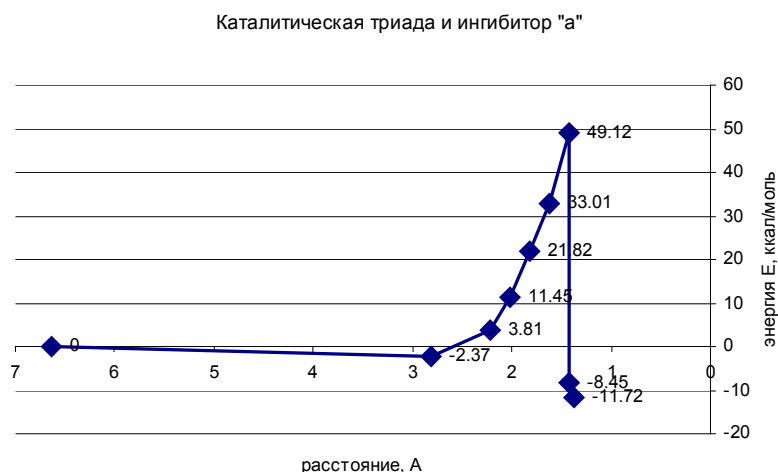


Рис. 7. Энергетическая кривая реакции I



Рис. 8. Энергетическая кривая реакции II

Реакция II. Во второй реакции окружением для каталитической триады и ингибитора выступал анионный сайт, состоящий из 5 аминокислотных остатков: Trp86, Tyr133, Glu202, Gly448, Pe451. Стерические препятствия для взаимодействия карбамоилированной группы ингибитора с гидроксильной группой Ser203 отсутствуют. Энергетический барьер образования связи между С и О равен 54.24 ккал/моль (рис. 8), что больше на 5.12 ккал/моль, чем энергетический максимум в контроле. Такое увеличение барьера, а также наблюдаемые вначале локальные минимум и максимум говорят о том, что анионный центр участвует в стабилизации промежуточных положений реакции, но не снижает энергетический барьер реакции в момент переходного состояния. Под промежуточными положениями понимаются процессы в течение одной реакции, каждый из которых оптимизировался в ходе приближения молекул.

Реакция III. В третьей реакции окружением выступал периферийный анионный сайт, он состоит из 6 аминокислотных остатков: Asp74, Tyr124, Ser125, Trp286, Tyr337, Tyr341. В начальном положении ингибитор и каталитическую



Рис. 9. Энергетическая кривая реакции III

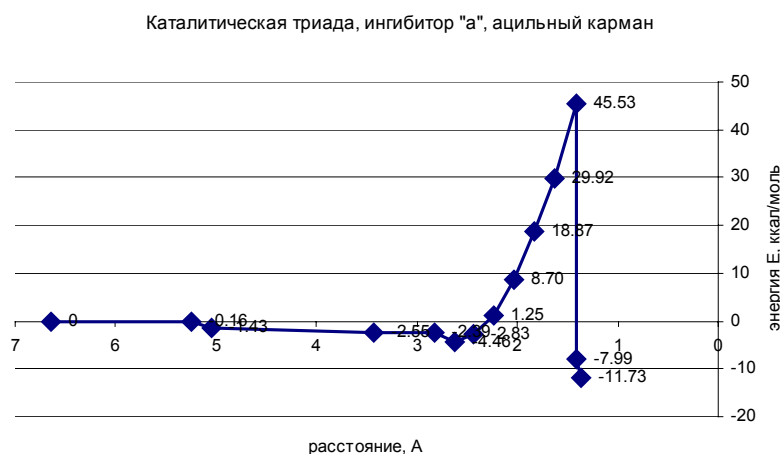


Рис. 10. Энергетическая кривая реакции IV

триаду окружают аминокислотные остатки периферийного анионного сайта. Отсутствуют аминокислотные остатки, которые стерически препятствовали бы прохождению ингибитора к Ser203, поэтому предполагалось, что данный сайт может снизить энергетический барьер реакции. Однако значение энергетического пика в этом случае равно 49.92 ккал/моль, что на 0.8 ккал/моль больше, чем у каталитической триады и ингибитора без окружения (рис. 9). Значения энергий промежуточных комплексов больше, чем в контроле без окружения на 2–3.5 ккал/моль, при этом различия увеличиваются в ходе приближения ингибитора к Ser203.

Реакция IV. В этом случае в качестве окружения выступал ацильный карман, который представлен 4 ароматическими аминокислотными остатками: Trp236, Phe295, Phe297, Phe338. Эти остатки охватывают область взаимодействия Ser203 с карбамоилированной группой ингибитора, не оказывая существенного влияния на сам ингибитор. Значение энергетического пика составляет 45.52 ккал/моль (рис. 10), что на 3.6 ккал/моль ниже, чем при взаимодействии каталитической триады и ингибитора без окружения. Данный факт свидетельствует о том, что



Рис. 11. Энергетическая кривая реакции V

ацильный карман в процессе взаимодействия с субстратом снижает энергетический барьер реакции. В пользу такого предположения говорят и промежуточные значения энергий комплекса, которые меньше в среднем на 3 ккал/моль, чем для контрольной реакции без окружения.

Реакция V. В пятом вычислительном эксперименте окружением для каталитической триады и ингибитора была омега-петля, которая состоит из 3 аминокислотных остатков: Thr83, Asn87, Pro88. Аминокислотные остатки омега-петли окружают ингибитор с одной стороны, поэтому не оказывают существенного влияния на процесс ингибирования. Данное предположение подтверждается значением энергетического пика, равным 48 ккал/моль, которое несколько меньше, чем значение пика в контроле (рис. 11). Опыт показал, что промежуточные положения комплекса стабилизируются омега-петлями. Это подтверждается промежуточными значениями энергии, они меньше на 2–1.5 ккал/моль значений последних для промежуточных положений контроля, при этом отличия в энергиях нивелируются с приближением С к О. На основании этого можно предположить, что омега-петля снижает энергетический барьер в процессе прохождения ингибитора в полость активного центра и приближения к каталитической триаде, но непосредственно на реакцию ингибирования не влияет.

Реакция VI. В шестой реакции окружением для участников реакции выступает оксианионная дыра, представленная тремя аминокислотными остатками: Gly121, Gly122, Ala204. Прохождение ингибитора к аминокислотному остатку Ser203 осложнено стерическими препятствиями, создаваемыми ближайшими атомами Gly и His, расстояние между которыми составляет 5.75 Å, что меньше параметров ингибитора (8.36 Å × 9.02 Å), то есть ингибитор полностью не может пройти в образовавшееся пространство между ними. Аминокислотные остатки оксианионной дыры окружают Ser203, Ala204 связан с ним пептидной связью. При приближении ингибитора возрастание энергии системы происходит быстрее, чем в других опытах, и, в отличие от остальных подсчетов, максимум энергетического пика возникает на расстоянии между С и О, равном 1.82 Å, в остальных опытах пик проявляется на расстоянии 1.42 Å. В момент энергетического пика происходит отделение карбоамилированной группы от ингибитора,

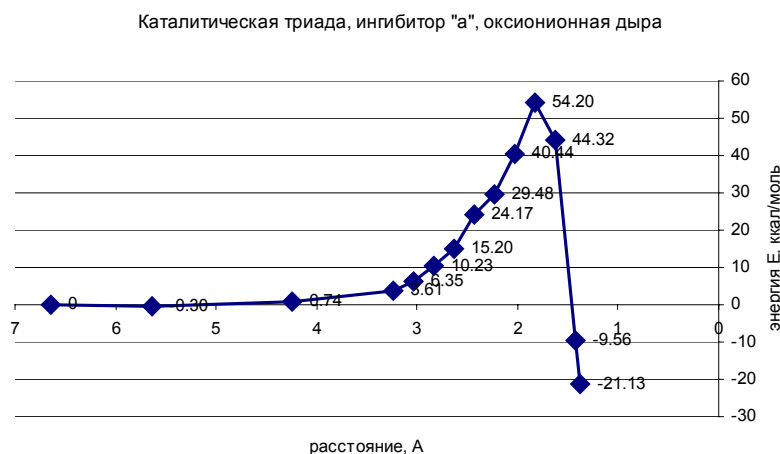


Рис. 12. Энергетическая кривая реакции VI

при этом карбамоилированная группа еще не присоединяется к гидроксильной группе Ser203, а находится между аминокислотными остатками. Значение энергии при отщеплении карбамоилированной группы резко падает, что говорит о том, что процесс энергетически выгоден. Значение энергетического пика 54.2 ккал/моль (рис. 12). Можно предположить, что оксианионная дыра выполняет своеобразную защитную функцию: не позволяет Ser203 взаимодействовать с ингибиторами, тем самым предотвращая блокирование функции фермента.

В ходе моделирования процесса взаимодействия каталитической триады и производного пиридоксина выделяется один существенный энергетический пик и несколько энергетических минимумов. В ходе контроля выявлен один существенный промежуточный энергетический минимум: расстояние между взаимодействующими атомами равно 2.82 Å, энергия составляет -2.37 ккал/моль. При моделировании с участием сайтов активного центра данный энергетический минимум есть в каждом из них. Значения энергетических минимумов у анионного сайта, ацильного кармана и омега-петли сравнимы с контрольным, их параметры: -2.32 ккал/моль при 2.83 Å, -4.63 ккал/моль при 2.63 Å и от -7.17 до -4.23 ккал/моль при расстояниях от 6.04 до 2.63 Å соответственно. В случае периферийного анионного сайта энергетический минимум наблюдался существенно раньше, чем в случае других окружений, -9.02 ккал/моль при расстоянии 4.03 Å, дальнейшее взаимодействие идет с повышением энергетического барьера. Исключением является реакция с участием оксианионной дыры, в случае которой он отсутствует. Это связано с тем, что аминокислотные остатки оксианионной дыры находятся между ингибитором и Ser203, такое положение не способствует образованию локальных энергетических минимумов. Проведенное моделирование показало, что каждый из изученных сайтов активной полости АХЭ выполняет свои функции, связанные с движением лиганда в полости активного центра, позволяя ему с меньшим энергетическим барьером продвигаться к каталитической триаде.

Разница между энергетическими барьерами опытных расчетов позволяет судить о пространственном положении сайтов относительно каталитической триады, о влиянии на передвижение лиганда и взаимодействии последнего с триадой.

При рассмотрении графиков и сравнении их с контролем можно установить начало взаимодействия окружения с лигандом. Так, например, омега-петля начинает взаимодействовать с лигандом уже на расстоянии 6.04 Å между реагирующими атомами, при этом положение молекул на данном расстоянии характеризуется энергетическим минимумом. Взаимодействие же с периферийным анионным центром наиболее выгодно на расстоянии 4.03 Å.

Проведенное моделирование наглядно показало, что наличие в лигандах отщепляющихся групп, таких как карбамоилированная, позволяет пройти стерические препятствия внутри полости активного центра фермента и более эффективно заблокировать его функции. Вероятно, это необходимо учитывать при поиске новых ингибиторов для АХЭ.

Заключение

Изучение молекулярного механизма взаимодействия, важного для функции аминокислотного остатка Ser203 и производного пиридоксина, с помощью компьютерного молекулярного моделирования позволило прояснить промежуточные стадии процесса взаимодействия Ser203 с лигандом и показало, что каждый сайт активного центра играет в этом процессе определенную роль. Оксианионная дыра выполняет своеобразную защитную функцию; анионный сайт снижает энергетические барьеры вначале прохождения ингибитора к каталитической триаде на расстоянии от 6.64 до 2.34 Å; омега-петля и ацильный карман – на расстоянии до 1.62 Å практически до образования связи между углеродом карбамоилированной группы лиганда и кислородом гидроксильной группы Ser203.

Использованный в работе подход позволил выявить свойства сайтов активного центра АХЭ и сделать предположение об их роли в процессе взаимодействия лигандов с АХЭ. Однако его использование корректно для изучения небольших частей активного центра, для выявления роли больших участков требует использование совмещенных КМ/ММ (квантовая механика / молекулярная механика) методов.

Работа финансировалась в рамках выполнения ФЦП Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 14.А18.21.0113).

Summary

R.Kh. Ayupov, N.I. Akberova, D.S. Tarasov. The Interaction of a Pyridoxine Derivative with the Active Site of Acetylcholinesterase.

Revealing the mechanism of interaction of enzymes with ligands at the active site is necessary for efficient search of new drugs and targeted modification of the existing ones. Computer simulation of the reaction between a pyridoxine derivative and a catalytic triad of the acetylcholinesterase (AChE) active center was carried out to understand the role of the active center sites during the interaction with the inhibitor. The effects of the following active center sites on the reaction were studied: peripheral anionic site, anionic site, oxyanion hole, omega loop, and acyl pocket. The simulation was performed using the PC GAMESS program by AM1 method. The distance between the carbon of the pyridoxine derivative carbamoyl fragment and the oxygen of the hydroxyl group of the catalytic triad serine amino acid residue

(Ser203) was chosen as the reaction coordinate. The coordinates changed with a step of 0.2 Å. The maximum and minimum values of the energy peaks were 54.24 and 45.52 kcal/mol respectively. When modeling the control reaction of the catalytic triad with the pyridoxine derivative without amino acid surroundings, the energy peak was 49.12 kcal/mol. The obtained values of the energy barriers were large, perhaps due to the fact that the reaction simulation took into account the influence of the separate parts of the active center rather than the whole enzyme.

Key words: molecular modeling, acetylcholinesterase (AChE), pyridoxine derivatives, inhibitors of AChE.

Литература

1. *Ekström F., Hörnberg A., Artursson E., Hammarström L.-G., Schneider G., Pang Y.-P.* Structure of HI-6NSarin-Acetylcholinesterase Determined by X-Ray Crystallography and Molecular Dynamics Simulation: Reactivator Mechanism and Design // *PLoS ONE*. – 2009. – V. 4, No 6. – C. 1–19.
2. *Cummings J.L., Vinters H.V., Cole G.M., Khachaturian Z.S.* Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities // *Neurology*. – 1998. – V. 51, Suppl. 1. – P. S2–S17.
3. *Giacobini E.* Cholinesterases and cholinesterase inhibitors. – Abingdon, UK: Informa Health Care, 2000. – 270 p.
4. *Giacobini E.* Selective inhibitors of butyrylcholinesterase: a valid alternative for therapy of Alzheimer's disease? // *Drugs Aging*. – 2001. – V. 18, No 12. – P. 891–898.
5. *Giacobini E.* Cholinesterases: new roles in brain function and in Alzheimer's disease // *Neurochem. Res.* – 2003. – V. 28, No 3–4. – P. 515–522.
6. *Giacobini E.* Cholinergic function and Alzheimer's disease // *Int. J. Geriatr. Psychiatr.* – 2003. – V. 18, Suppl. 1. – P. S1–S5.
7. *Giacobini E.* Butyrylcholinesterase, its function and inhibitors. – London; N. Y.: Martin Dunitz Pub., 2003. – 181 p.
8. *Giacobini E.* Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives // *Pharmacol. Res.* – 2004. – V. 50, No 4. – P. 433–440.
9. *Giacobini E., Spiegel R., Enz A., Veroff A.E., Cutler N.R.* Inhibition of acetyl- and butyrylcholinesterase in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease by rivastigmine: correlation with cognitive benefit // *J. Neural Transm.* – 2002. – V. 109, No 7–8. – P. 1053–1065.
10. *Махаева Г.Ф., Фетисов В.И., Соколов В.Б., Янковская В.Л., Горева Т.В., Малыгин В.В., Безноско Б.К., Галенко Т.Г., Коломиец А.Ф., Мартынов И.В.* Взаимодействие диалкил(а-карбометокси-*b,b,b*-трифторэтил)фосфатов с эстеразами млекопитающих // *Биоорг. химия*. – 1987. – Т. 13, № 1. – С. 33–37.
11. *Radchenko E.V., Makhaeva G.F., Malygin V.V., Sokolov V.B., Palyulin V.A., Zefirov N.S.* Modeling of the relationships between the structure of O-phosphorylated oximes and their anticholinesterase activity and selectivity using molecular field topology analysis (MFTA) // *Dokl. Biochem. Biophys.* – 2008. – V. 418, No 1. – P. 47–51.
12. *Makhaeva G.F., Aksinenko A.Y., Sokolov V.B., Serebryakova O.G., Richardson R.J.* Synthesis of organophosphates with fluorine-containing leaving groups as serine esterase inhibitors with potential for Alzheimer disease therapeutics // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – V. 19, No 19. – P. 5528–5530.
13. *Cummings J.L.* Cholinesterase Inhibitors: A new class of psychotropic compounds // *Am. J. Psychiatry*. – 2000. – V. 157, No 1. – P. 4–15.

14. *Taylor P.* Development of acetylcholinesterase inhibitors in the therapy of Alzheimer's disease // *Neurology*. – 1998. – V. 51, Suppl. 1. – P. S30–S35.
15. *Аюпов Р.Х., Акберова Н.И., Тарасов Д.С.* Докинг производных пиридоксина в активном центре холинэстераз // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки*. – 2011. – Т. 153, кн. 3. – С. 107–118.
16. *Стрельник А.Д.* Синтез и биологическая активность некоторых производных пиридоксина: Дис. ... канд. хим. наук. – Казань, 2010. – 128 с.
17. Protein Data Banka. – URL: <http://www.rcsb.org>: 2JEY, свободный.
18. *Granovsky A.A.* Firefly version 7.1.G. – URL: [www http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html](http://www.classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html), свободный.
19. Python 2.6. – URL: <http://www.python.org>, свободный.
20. Chemcraft 1.5. – URL: <http://www.chemcraftprog.com>, свободный.
21. *Яковлев В.А., Волкова Р.И.* Исследование активных центров холинэстераз с помощью фосфорорганических ингибиторов // *Докл. АН СССР*. – 1962. – Т. 146, № 1. – С. 217–220.
22. *Shafferman A., Barak D., Stein D., Kronman C., Velan B., Greig N.H., Ordentlich A.* Flexibility versus “rigidity” of the functional architecture of AchE active center // *Chem. Biol. Interact.* – 2008. – V. 175, No 1–3. – P. 166–172.
23. *Xu Y., Colletier J.-P., Weik M., Jiang H., Moulton J., Silman I., Sussman J.L.* Flexibility of aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase: X-ray versus molecular dynamics // *Biophys. J.* – 2008. – V. 95, No 5. – P. 2500–2511.

Поступила в редакцию
19.03.12

Аюпов Рустам Хасанович – студент кафедры биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.

Акберова Наталья Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: nakberov@ksu.ru

Тарасов Денис Станиславович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Казанского филиала Межведомственного суперкомпьютерного центра РАН.