

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу А.Б.Баумкетнера
“Нові аспекти згортання та агрегації білків: Теорія та комп’ютерне моделювання”,
представленої на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук
за спеціальністю 01.04.24 – фізика колоїдних систем

Дисертаційна робота А.Б. Баумкетнера присвячена моделюванню процесів згортання та агрегації білків. На сьогоднішній день процеси, в яких задіяні білкові макромолекули, досліджуються в низці суміжних з біологією дисциплінах, таких як фізика, хімія та комп’ютерні науки. На рівні індивідуальної молекули особливе зацікавлення викликає процес згортання білків. На рівні макроскопічного водного розчину білки демонструють цікаву колективну поведінку, яка проявляється у фазових переходах та процесах самоорганізації.

Однією зі слабо вивчених проблем є фазове розшарування типу рідина-рідина у водних розчинах білків. Рідка фаза з високим вмістом білка, яка виникає в розчині внаслідок його охолодження, виступає в ролі кінетичного прекурсора для кристалізації в розчинах альбуміну. Також у кристалику ока рідка фаза асоціюється з виникненням катаракти. Для фізики колоїдних систем явище фазового розшарування - це одна з найбільш актуальних проблем. Досі залишається незрозумілим, який опис молекули білка необхідно використовувати для того, щоб вірно описати особливості фазової поведінки при зміні зовнішніх умов. Більше того, на сьогодні не існує моделі білка, яка б правильно описувала фазову поведінку його розчину. В дисертаційній роботі приділено увагу цій проблемі.

Також значний інтерес викликають рівноважні кластери, які утворюються внаслідок взаємодії білків. Крім білків кластери спостерігаються в багатьох інших колоїдних системах, наприклад синтетичних клеях та металічних наночастинках. Як частковий випадок явища самоорганізації, процес утворення кластерів є однією з центральних проблем фізики колоїдних систем. На жаль наявні знання про цей процес є обмеженими. На сьогодні відомо про два типи міжчастинкових потенціалів, що приводять до утворення кластерів: а) потенціали з конкуруючими притяганням та відштовхуванням, та б) суто відштовхувальні потенціали. Наскільки вичерпним є цей список – незрозуміло. Також бракує інформації про термодинамічні фактори, які контролюють збірку кластерів у розчині. В дисертаційній роботі проведено аналіз різних типів міжмолекулярних потенціалів в білковому розчині, що є вагомим внеском в цю галузь науки.

Останнім часом великі зусилля спрямовано на з’ясування принципів, що лежать в основі згортання білків. Незважаючи на це, багато аспектів цього процесу залишаються незрозумілими. Зокрема, це стосується процесу згортання за посередництва молекулярних шаперонів. Добре відомо, що лише від 65 до 80% білків в живій клітині здатні згортатися спонтанно. Всі інші потребують допомоги шаперонів. Шаперони, такі як комплекс GroEL/ES в бактерії кишкової палички, надають порожнину (комірку), в яку поміщаються ті білки, які не можуть згорнутися самостійно. Структура комірки відома з кристалографічних досліджень, однак механізм її роботи залишається нез’ясованим. В роботі проведено моделювання процесів згортання білка в обмеженому об’ємі порожнини шаперона, що дозволяє краще зрозуміти цей процес.

Багато білих плям також існує в розумінні роботи моторних білків. Зокрема, для м’язового білка міозину структурні стани M^* та M^{**} , між якими відбувається перехід, що відновлює здатність білка генерувати силу - так-званий стрибок відновлення, - відомі з кристалографічних досліджень. Проте мікроскопічні деталі переходу в таких дослідженнях недоступні. Спектроскопічні методи, такі як флуоресцентний резонансний перенос енергії чи спінове ехо не мають атомної роздільної здатності, що ускладнює інтерпретацію їх

результатів. З'ясування деталей цього процесу необхідне, зокрема, для дослідження механізмів виникнення кардіоміопатій - хвороб, спричинених мутаціями в первинній структурі міозину. В роботі проведено моделювання структурних переходів в молекулі міозину, що дозволяє зрозуміти молекулярні механізми цього процесу.

Ще однією дуже важливою проблемою, яка досліджується в роботі, є агрегація білків з утворенням амилоїдних фібрил, які лежать в основі хвороб Альцгеймера (AD), Паркінсона та низки інших нейродегенеративних розладів. Для хвороби Альцгеймера, наприклад, це амилоїд β -пептид, A β . Вже зараз число хворих з AD вимірюється багатьма мільйонами а з часом - лише різко збільшиться, оскільки наступ хвороби пов'язаний з віком, а середній вік населення зростає. Подібна картина спостерігається і для інших споріднених розладів. Тому проблема винайдення ліків від цієї недуги стоїть дуже гостро. Першим і необхідним кроком на цьому шляху є зрозуміти фізику утворення амилоїдних фібрил. До найбільш нагальних задач в цьому контексті належать: 1) встановлення мікроскопічної структури фібрили та факторів, що її контролюють, 2) з'ясування механізму їх утворення, 3) дослідження впливу середовища, наприклад змін рН, та варіацій первинної структури білка, що виникають зокрема у вроджених формах хвороби.

З огляду на все сказане вище, актуальність теми дисертації не викликає жодних сумнівів.

Дисертація складається з шести розділів. **Перший розділ** – це огляд літератури, в якому коротко описано стан досліджень для проблем розглянутих в інших п'яти розділах дисертації. На мою думку ключові досягнення представлені в цьому розділі достатньо повно і створюють необхідний контекст для розуміння результатів роботи. З іншого боку розділ достатньо короткий. Тому, я вважаю, що дисертанту в ньому вдалося досягнути вдалого балансу між довжиною і рівнем деталізації.

В **другому розділі** досліджено фазову поведінку водного розчину білка лізоциму. Цей білок належить до широкого класу колоїдних систем, які розшаровуються при пониженні температури на дві фази – одна з великою, а друга з малою концентрацією колоїду. Теоретичний опис цього процесу містить дві ключові складові: 1) модель білка та 2) потенціал взаємодії між білками. Вибір моделі базується на певних фізичних міркуваннях. Наприклад, на великих відстанях всі молекули, незалежно від їхньої хімічної структури, стискаються в одну точку. В цьому випадку білки можна уявляти собі як одиночні взаємодіючі частинки. Існує кілька способів отримати потенціал взаємодії для такої моделі. Найбільш поширений серед них – теоретичний розрахунок з допомогою однієї з багатьох відомих теорій рідкого стану. Основний недолік такого методу є його недостатня точність. Останнім часом з'явилась можливість вимірювати статичний структурний фактор розчинів білка в експериментах з розсіювання нейтронів на малих кутах (SANS). Для лізоциму було знайдено, що модельні потенціали не дуже добре відтворюють цю функцію, що показує потребу більш точного опису. Значним досягненням дисертації є отримання потенціалу взаємодії безпосередньо зі структурного фактора. Це вперше коли теоретична і експериментальна структура повністю співпадають. Ще цікавішими виявились результати подальшого аналізу. Фазова діаграма розрахована з допомогою одержаного потенціалу незадовільно узгоджується з експериментальними даними. Зокрема, теоретичні значення критичної густини та температури переоцінені приблизно вдвічі. Оскільки потенціал не міг бути причиною поганого узгодження – він отриманий безпосередньо з експерименту, було зроблено висновок, що застосована модель, в якій білок представлено однією сферичною частинкою, є неадекватною. Модель було узагальнено для несферичних форм в такий спосіб щоб правильно описати як структуру так і фазову діаграму розчину. Це надзвичайно важливий результат, який демонструє, що форма білка має значний вплив на його колективну поведінку. Такий самий ефект можна очікувати і у внутрішньому середовищі клітин, де білки

знаходяться в щільному оточенні багатьох молекул. Таким чином, отримані в дисертації результати дозволяють глибше зрозуміти молекулярні процеси, що відбуваються в живій природі.

Крім фазового розшарування, білки можуть утворювати менші за розмірами комплекси, кластери. Як і у простих колоїдних суспензіях, у білкових розчинах кластери – це різноманітні мультимери, які утворюються внаслідок само-асоціації колоїду та перебувають у рівновазі з мономерами. Як було сказано вище, відомо два типи потенціалів, що призводять до утворення кластерів. В дисертаційній роботі вперше показано, що потенціали з локальним мінімумом і відштовхувальним хвостом, які не належать до жодного з цих типів, також здатні породжувати кластери. Проведено детальний порівняльний аналіз, який показує, що новий тип кластеротворних потенціалів служить містком між іншими двома. Це значне досягнення роботи, яке суттєво поглиблює розуміння процесів самоорганізації в колоїдних системах.

Третій розділ присвячений білкам, які потребують допомоги молекулярних шаперонів для того щоб згорнутись. Шаперони, такі як комплекс GroEL бактерій *E. Coli*, допомагають згортати білки надаючи порожнину в якій ново-синтезований білок може бути ізольований. Методом моделювання молекулярної динаміки в дисертації досліджено роль просторового обмеження (конфайнменту) в процесі згортання. Було розглянуто модельний білок типу α/β -сендвіч, який є типовим структурним елементом характерним для системи GroEL/ES. Білок було поміщено в сферичну гідрофільну комірку, яка імітувала внутрішню поверхню комплексу шаперону. В дослідженні термодинаміки та кінетики згортання було встановлено, що ефект просторового обмеження дуже сильно залежить від рівня шороховатості поверхні вільної енергії білка, або по-іншому, його рівня фрустрації. Прискорення всередині комірки з відштовхувальними стінками спостерігається тільки для систем з мінімальною фрустрацією. Це важливий новий результат, який проливає світло на роль комірки шаперона в згортанні.

Нещодавні експерименти виявили, що існують білки, для яких не потрібна циклічна робота шаперона, щоб згортатися ефективно. Для таких білків достатньо одиночної взаємодії з шапероном, і попадання в його комірку, щоб безперешкодно досягти природного стану. Це спостереження порушує питання про можливість шаперону відігравати активну роль в процесі згортання білків, шляхом, можливо, прямого втручання у конформації білків. Щоб дослідити вірогідність такого сценарію, симуляції були поширені на випадок притягальної стінки комірки. Було встановлено, що в умовах помірно притягальної стінки, згортання може протікати більш ніж на порядок швидше. Виявилось, що пришвидшення досягається завдяки появі в шляхах згортання нового проміжного стану з низькою енергією, в якому білок перебуває у зв'язаному з комірною стані. В контексті розуміння роботи шаперонів, спостережуваний механізм підтримує правильність теорії ітераційного відпалу.

В четвертому розділі представлено дослідження агрегації білків за допомогою моделі скороченого опису. Розглянуто атомну модель в якій вводяться парні ефективні потенціали для того, щоб врахувати вплив розчинника. Потенціали діють на амінокислотні залишки та отримуються з тої умови, що модель, яка не містить розчинника, правильно відтворює відповідні парні функції розподілу, що спостерігається в симуляціях з явним розчинником. З допомогою отриманих потенціалів було досліджено згортання пептиду поліаланіну та показано, що основні характеристики цього процесу в явному та неявному розчиннику співпадають. Подальші тести, проведені для кількох пептидних ланцюгів, показали, що отримана модель вірно відтворює експериментально спостережувану тенденцію поліаланінів збиратися в β -листі зі зростаючою довжиною пептидного ланцюга. Запропонована модель – одна з небагатьох, що може бути використана для успішного моделювання згортання та агрегації дрібних пептидів з атомною точністю. Зокрема, в дисертації її було використано для дослідження впливу зовнішнього електричного поля.

Поле в контексті біологічних процесів почало вивчатися ще в 50-х роках минулого сторіччя. Тим не менше, як саме воно впливає на біологічні молекули залишається погано зрозумілим. Одним з основних механізмів взаємодії білків з полем є зсув заселеності в їх конформаційному ансамблі. В основі цього явища лежить відмінність дипольного моменту різних конформацій білка. Внаслідок взаємодії з полем статистична вага конформацій з великим моментом росте а тих, що мають малий момент, - зменшується. Для слабких полів – цей ефект незначний. Однак в границі сильного поля, зсув може привести до структурного переходу в стан з найбільшим дипольним моментом. В дисертаційній роботі приведено перший систематичний аналіз такого індукованого переходу, в якому показано, що неструктуровані пептиди аланіну згортаються у α -спіральні конформації для певних напруженостей поля E . Більше того, приведені аналітичні оцінки для цього явища, включаючи вирази для залежності заселеності спірального стану від E . Значимість цього результату полягає в тому, що він застосовний до всіх неструктурованих білків, оскільки джерелом дипольного моменту у них є атоми остова. Дисертант відмічає, що такий перехід повинен спостерігатися для неупорядкованих білків відповідальних за виникнення нейрогенеративних хвороб пов'язаних з амилоїдом, і робить припущення, що для цих систем він буде мати далекосяжні наслідки. Дійсно, амилоїдні фібрили багаті на β - структуру, яка є несумісною з α -структурою. Як наслідок, індукований перехід в α -спіральний стан повинен привести до розпаду фібрил. Дане припущення було перевірене і підтверджене в комп'ютерному моделюванні поліаланінових пептидів. В симуляціях було зроблено оцінку інтенсивності поля, необхідного для розпаду амилоїду. Важко переоцінити значимість цього результату, оскільки він відкриває двері для контролю над процесом агрегації білків за допомогою зовнішнього поля. В лабораторних умовах використання поля може значно полегшити проведення експериментів над амилоїдогенними пептидами. В умовах живих клітин, стає зрозуміло, що поле може відігравати важливу роль в процесах самоорганізації білків.

В п'ятому розділі досліджено стрибок відновлення моторного білка міозину, протягом якого перед-відновлювальна пасивна конформація змінюється в активну, пост-відновлювальну конформацію, яка має здатність генерувати силу. З основних результатів можна відзначити наступне. 1) Було встановлено, що стрибок відновлення — це дво-кроковий процес, який складається з двох етапів розділених часовим інтервалом. Перший етап – замикання петлі ключа II за присутності АТФ, був описаний в моделюванні білка в неявному розчиннику. 2) Для другого етапу, який полягає в повороті домена конвертора білка, було побудовано моделі скороченого опису, які досліджувались в явному розчиннику. Було побудовано цілу низку обчислювальних моделей, що містять релейну спіраль, яка змінює конформацію під час повороту, та три інші сегменти: релейну петлю, конвертер-домен та спіраль 1 гомології до Src (SH1), з якою взаємодіє релейна спіраль. Провівши вичерпний комбінаторний пошук серед всіх можливих моделей, було виявлено, що: а) домен-конвертор повинен бути прикріплений до релейної спіралі під час переходу, щоб уникнути втручання в роботу інших частин білка; б) конформація релейної спіралі контролюється спіраллю SH1. Зміна у її структурі пов'язана зі специфічним розміщенням спіралі SH1. Вона виникає в результаті прямої взаємодії між SH1 і релейною спіраллю та призводить до обертання С-кінцевої частини релейної спіралі, яка згодом передається до домену-конвертора. Дослідження були розширені на випадок, коли положення спіралі SH1 по відношенню до релейної спіралі необмежене в просторі. Виявилось, що модель яка утворюється таким чином, має рівно два відмінні стани повороту конвертора. Встановлено, що перехід між цими двома станами контролюється спіраллю SH1, розташованою поруч з релейною спіраллю та релейною петлею. Виявляється, що незначний зсув у позиції SH1 у напрямку протилежному до релейної спіралі викликає перехід від одного стану до іншого. Перехід відбувається під

дією гідрофобних залишків I687, F487 та F506, які роблять значний внесок у стабільність обох станів. Дуже важливо, що встановлений механізм добре узгоджується з наявними структурними та мутаційними дослідженнями. Це свідчить про достовірність отриманої моделі, яка утворює укорочену версію головки білка міозину, що містить функціонально діючий структурний перехід.

В шостому розділі представлені результати досліджень амилоїдних фібрил. Спершу представлені дослідження фібрил утворених з пептидів A β . В цих пептидах схильність до агрегації сильно залежить від одиничних точкових мутації в послідовності амінокислот на позиціях 22 та 23. Мутація яка включає заміщення глутамінової кислоти на позиції 22 на глутамін, E22Q, і відома під назвою “Голландська”, призводить до збільшення швидкості осідання пептиду A β E22Q на амилоїдні фібрили. Шляхом моделювання методом молекулярної динаміки та алгоритму обміну репліками було досліджено ефект мутації E22Q на дві ключові ділянки A β пептиду, що беруть участь у згортанні та агрегації. Було встановлено, що мутація понижує бар'єр для осідання мономерів на фібрили, внаслідок чого швидкість осідання збільшується. Той факт, що термодинамічні ознаки цього процесу добре узгоджуються з експериментальними спостереженнями, свідчать про високу якість проведеного моделювання.

Пізніше було досліджено фібрили фрагменту пептиду, що містить залишки 11-25, A β 11-25. Нещодавно було встановлено, що цей пептид утворює амилоїдні фібрили, що складаються з антипаралельних β -листів. Цікавим є те, що фібрили, вирощені в нейтральному та кислому середовищах, мають різні реєстри β міжниткових водневих зв'язків. Для того щоб пояснити мікроскопічне походження рН залежності, було побудовано низку структурних моделей для фібрил при низьких та нейтральних значеннях рН, які було досліджено в коротких молекулярно-динамічній симуляціях з використанням явного розчинника. Моделі, що показали найнижчу вільну енергію, оцінену за допомогою неявної моделі розчинника, були обрані в якості зразків структури справжньої фібрили. Було показано, що реєстр цих моделей добре узгоджується з експериментальними спостереженнями. В нейтральному середовищі основним внеском у різницю вільної енергії між двома реєстрами є електростатична взаємодія. Група зарядів карбоксильного кінця робить великий внесок у ці взаємодії і, отже, відіграє ключову роль у визначенні реєстру. Це важливий результат який проливає світло на мікроскопічні чинники, що визначають структуру фібрил.

Дисертація добре написана та містить цілу низку нових та цікавих результатів. В той же час я вважаю за необхідне зробити наступні **запитання та зауваження по суті роботи**:

1) На Рис. 2.11 наведено форму використаних міжмолекулярних потенціалів взаємодії. При такому спрощеному описі потенціалів як правило обирають або сукупність прямолінійних сегментів, або суцільну гладку неперервну криву. В роботі ж потенціали є досить дивною та складною сумішшю прямокутних потенціальних ям, похилих сегментів та неперервних кривих. З чим пов'язана така дивна форма потенціалів і чи не є вона занадто складною для поставленої задачі? Мені здається, що всі наведені потенціали можна легко описати аналітичною кривою, що має параболічну потенціальну яму від 0 до σ_A та гладкий спадний хвіст для $r > \sigma_A$. За необхідності можна додати ступеневу “стінку” для $r < \sigma_H$.

2) В моделі взаємодії білка з шапероном не досить зрозуміло, наскільки гідрофобною має бути стінка шаперона для досягнення максимального прискорення згортання. Оскільки порожнина заповнена водою, то очевидно, що структура самого шаперону GroEL/ES не буде стійкою якщо внутрішня стінка є суттєво гідрофобною. Бажано було б дати оцінку отриманого значення гідрофобності, наприклад, в термінах відсотка гідрофобних амінокислотних залишків та співставити її з наявними моделями структури GroEL/ES. В

цьому розділі також незрозуміло за допомогою якого програмного забезпечення проводилося моделювання.

3) З методичної точки зору у мене виникають питання до методу обміну репліками, що використано в кількох розділах роботи. Відомо, що для складних систем з великим вмістом води “стрибки” між репліками в основному генеруються випадковими флуктуаціями молекул води, які ніяк не корелюють з поточною конформацією білку (див. <https://doi.org/10.1063/1.2404954>). Для уникнення цієї проблеми треба ретельно підбирати параметри схеми обміну репліками. Чи проводилися тести цього алгоритму для вибору оптимальних параметрів? Якщо так, то яким чином. Яким чином перевірялася ефективність обміну репліками?

4) У мене є численні зауваження до опису параметрів моделювання. У розділі 4.1.3 сказано, що “всі симуляції, про які повідомляється в цій дисертації, були виконані пакетом молекулярного моделювання GROMACS”. Це помилка, бо очевидно, що симуляції агрегації білків у спрощених моделях зроблено іншим програмним забезпеченням. Версія пакету жодного разу не зазначена. Радіус відсічки у 0.8 нм для потенціалу Ван дер Ваальса для силового поля OPLS/AA вбачається замалим — як правило використовують значення 1.0-1.2 нм, так само як для електростатичних взаємодій.

У розділі 5 параметри радіусу відсічки відрізняються від розділу 4 (“переключення” у розділі 5 та схема “cut-off” у розділі 4), хоча використовується те саме силове поле. Ця різниця ніяк не пояснюється. Також не зрозуміло що значить “спрямовувались до нуля” - це схема “potential-shift” чи “potential-switch”? Також абсолютно не зрозуміло що таке “далекосяжні взаємодії Леннард-Джонса”, бо в пакеті GROMACS є тільки кулонівські далекосяжні взаємодії. “Взаємодії Леннард-Джонса” - це робочий сленг, який не варто використовувати у дисертації. Є взаємодії Ван дер Ваальса та потенціал Леннард-Джонса.

У розділі 6.2.1 нема жодного опису параметрів методу umbrella sampling. Для цього методу обов’язково мають зазначатися кількість вікон, силова константа та довжина траєкторії для кожного вікна. Цих даних нема і як наслідок виникають сумніви щодо збіжності отриманих профілів вільної енергії. На Рис. 6.12 нема похибок, хоча їх можна легко розрахувати методом “бутстрепінга”, який включено у всі основні реалізації алгоритму WHAM.

У розділі 6.2.4.2. параметри переключення для Ван дер Ваальсу знову інші — від 0.7 до 0.8 нм, тоді як у розділі 5 було від 0.8 до 1.0 нм. Чому? Знову таки, 0.7 нм це дуже малий радіус, який може призвести до спотворення результатів. Використання таких аномально малих значень ніяк не пояснюється.

Також є низка **зауважень щодо оформлення** дисертації та автореферату:

1) У різних розділах роботи використано різну структуру тексту: в одних методи йдуть на початку розділу, тоді як в інших в кінці. Це дуже ускладнює сприйняття викладеного матеріалу.

2) В тексті часто вживаються дивні вирази на зразок “часові висліди” чи “моделі скороченого опису”. Це наслідок невдалого прямого калькування з англійської. На мою думку перекладати такі складні терміни як “umbrella sampling” не варто взагалі, бо що таке “метод парасолькового відбору вибірки” можна тільки здогадуватися, якщо не зробити зворотній переклад.

3) Багато дрібних помилок на кшталт “атоми Гідрогену” - може здатися, що гідроген це ім’я.

4) Зустрічаються невдалі вислови на зразок “ці та інші рисунки були створені за допомогою RuMOL” - які саме “ці” і які саме “інші”? Зрозуміло, що не всі рисунки в дисертації зроблені цією програмою.

5) В авторефераті дуже невдало сформульовані задачі роботи. “Встановлення необхідного рівня опису та запровадження необхідних моделей.” - моделей чого? “Опис процесів утворення кластерів у білкових розчинах” - опис на якому рівні? Теоретично, розрахунково чи аналітично? “З’ясування ролі обмежуючої комірки в процесі згортання білків за допомогою шаперонів” - варто було б написати явно модель якого шаперона використовується, бо вона в роботі одна і аж ніяк не є загальною. “Дослідження ролі зовнішнього електричного поля в процесах згортання та агрегації білків” - знову таки не всіх білків, а конкретно амілоїдних фібрил. Чому б не написати це конкретно?

6) Частина висновків є не висновками, а результатами, проте це є дуже розповсюдженою вадою у багатьох дисертаційних роботах. У формулюванні багатьох висновків простежується недостатня конкретизація, так само як і у задачах роботи.

Наведені зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи. Проведені у дисертації дослідження відповідають спеціальності 01.04.24. Основні результати дисертації опубліковані в 23 статтях в міжнародних журналах, що належать до списку журналів, у яких мають бути опубліковані матеріали дисертаційних досліджень зі спеціальності групи 01.04 - фізика. Усі викладені в дисертації оригінальні результати отримані за безпосередньої участі здобувача. Автореферат дисертації повністю відображає її зміст.

Я вважаю, що дисертаційна робота “Нові аспекти згортання та агрегації білків: Теорія та комп’ютерне моделювання” задовольняє усім вимогам “Порядку присудження наукових ступенів” затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, а її автор Андрій Богданович Баумкетнер, безумовно заслуговує присудження йому наукового ступеня доктора фізико-математичних наук зі спеціальності 01.04.24 - фізика колоїдних систем.

Офіційний опонент:

Доктор фізико-математичних наук,
старший науковий співробітник,
провідний науковий співробітник
відділу фізики біологічних систем
Інституту фізики НАН України

Єсилевський С.О.



Підпис засвідчую:
Провідний інженер
НОГ
А.М. Луценко

