

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛАСТИВОСТЕЙ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ З БІЛИХ М'ЯЗІВ І ПЕЧІНКИ КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО (*Carassius auratus* L.)

О. Ю. ВАСИЛЬКІВ, В. І. ЛУЩАК

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника,
Івано-Франківськ, Україна;
e-mail: lushchak@pu.if.ua

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) з печінки і білих м'язів карася сріблястого *Carassius auratus* була частково очищена шляхом фракціонування сульфатом амонію. Ензим з печінки мав $V_{max} = 1,85 \pm 0,31$ од. акт./мг протеїну, а з білих м'язів — $3,74 \pm 0,27$ од. акт./мг протеїну. Проте, ЛДГ з печінки була менш чутливою до субстратного інгібування ($I_{50} 9,92 \pm 1,09$ мМ), порівняно з аналогічним показником для ЛДГ з білих м'язів ($I_{50} 5,87 \pm 1,39$ мМ). Встановлено оптимуми рН ізоензимів, які дорівнювали 7,0–8,0 і 7,25–8,75 для ЛДГ білих м'язів і печінки відповідно. Проведено інактивацію частково очищеної ЛДГ в системі вільнорадикального окислення Fe^{2+}/H_2O_2 . При інкубації ензиму протягом 5 хв з H_2O_2 (10–50 мМ) і $FeSO_4$ (20–500 мкМ) втрачалася приблизно половина початкової активності. Ступінь інактивації ензиму зростала зі збільшенням концентрації йонів заліза і пероксиду водню. При інкубації у присутності 20 мкМ $FeSO_4$ і 10 мМ H_2O_2 протягом 60 хв ензим з білих м'язів втрачав 44% активності, а ензим із печінки — 26%, незалежно від того який буфер використовували.

Ключові слова: лактатдегідрогеназа, інактивація, *Carassius auratus*.

Лактатдегідрогеназа (L-лактат — NAD^+ — оксидоредуктаза, ЛДГ, КФ 1.1.1.27) — неключовий ензим гліколізу, проте йому приділяють багато уваги. Це пов'язано з його важливим значенням як термінального гліколітичного ензиму [1–3].

Найкраще досліджена ЛДГ теплокровних організмів. Зокрема в літературі детально описані ізоензимний спектр і властивості окремих ізоензимів, які найчастіше стосуються ЛДГ із різних тканин ссавців [4]. У птахів і ссавців звичайно знаходять п'ять ізоензимів ЛДГ. Усі ці форми є тетрамерами, що утворюються різним поєднанням двох типів субодиниць: серцевої (Н) і м'язової (М), синтез яких контролюється різними генами [5]. Комбінація субодиниць призводить до утворення п'яти тетрамерів (H_4 , H_3M_1 , H_2M_2 , H_1M_3 , M_4) [6]. Субодиниці Н і М мають однакову молекулярну масу, але відрізняються за хімічними, фізичними та імунологічними властивостями [4]. Ізоензим H_4 ЛДГ, наприклад, домінує в серцевому м'язі, тоді як ізоензим M_4 , навпаки, переважає в білих м'язах [4]. Щодо пойкилотермних організмів, зокрема риб, то ці дані відносно обмежені. Для риб характерне полігенне програмування лактатдегідрогенази, що виражається в наявності від 1 до 20 ізоензимів [7].

Лактатдегідрогеназа, хоч і відносно резистентна, проте може інактивуватись активованими формами кисню (АФК). До них належать супероксид-аніон (O_2^-), пероксид водню (H_2O_2), гідроксильний радикал (HO^\cdot) [8–10]. АФК взаємодіють практично з усіма типами біологічно важливих молекул, зокрема протеїнів, нуклеїнових кислот та ліпідів [11].

Мета роботи — проведення порівняльного аналізу властивостей частково очищеної лактатдегідрогенази з білих м'язів і печінки карася сріблястого (*Carassius auratus*), визначення рН-залежності, кінетичних характеристик, дослідження характеру інактивації ЛДГ карася сріблястого в системі H_2O_2/Fe^{2+} .

Матеріали і методи

У роботі використовували NADH (Reanal, Угорщина), піруват, сульфат заліза, ЕДТА (етилендіамінтетраацетат), NERES (N-2-гідроксипіперазин N'-2-етансульфонова кислота, Sigma, США). Решта реактивів вітчизняного виробництва найвищого ступеня чистоти.

ЛДГ отримували з печінки і білих м'язів карася віком один рік та масою 50–150 г. Риб перед експериментом витримували протягом тижня в резервуарі об'ємом 1000 л з відстояною водопровідною водою, концентрацію кис-

ню підтримували в межах 6–8 мг/л, при рН води 7,5–8,0 і температурі 18 ± 2 °С. Зразки тканин риби охолоджували до 1–3 °С в 0,9%-му розчині NaCl, промокали фільтрувальним папером та гомогенізували в гомогенізаторі Поттера в 50 мМ калій-фосфатному буфері (КФБ; рН 7,0) з 0,5 мМ ЕДТА (тут і далі наведені кінцеві концентрації). Одержані гомогенати центрифугували 12 хв при 4 °С і 8000 g на центрифугі ОПН-8. Осад відкидали, а із супернатантів виділяли ЛДГ, осаджуючи протеїн кристалічним сульфатом амонію при 0–4 °С [12].

Протеїни, що було осаджено при концентрації сульфату амонію в діапазоні насичення 50–52% супернатанту, виділяли центрифугуванням (10 хв, 7000 g, 4 °С). Далі осад розчиняли в 1–2 мл 50 мМ КФБ (рН 7,0) і використовували як препарати лактатдегідрогенази для визначення активності ензиму та концентрації протеїну.

Активність ЛДГ визначали спектрофотометричним методом із застосуванням Spccoll 211 (Німеччина) в середовищі, яке містило: 50 мМ КФБ (рН 7,0), 1 мМ ЕДТА, 0,2 мМ NADH, 1 мМ піруват. Коефіцієнт молярного поглинання вважали рівним $6220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [13]. Загальний об'єм проби – 1,25 мл. Реакцію починали внесенням до середовища інкубації частково очищеного ензиму. При дослідженні кінетичних параметрів – константи Міхаеліса (K_M) для NADH та пірувату і максимальної активності (V_{\max}) – використовували NADH та піруват у кінцевих концентраціях 4–400 мкМ та 0,005–1 мМ відповідно; для визначення коефіцієнта половинного інгібування (I_{50}) надлишком пірувату – 1–40 мМ.

Залежність ЛДГ з білих м'язів і печінки від рН досліджували в буферній системі (рН 5,75–9,50), яка містила 50 мМ КФБ і 50 мМ трис-НСІ. Під час побудови графіків рН-залежності ЛДГ за 100% приймали максимальне значення її активності.

Активність у всіх випадках нормували на міліграм загального протеїну, концентрацію якого визначали методом Бредфорд за інтенсивністю забарвлення комплексу протеїну з кумасі G-250 [14] із використанням БСА як стандарту.

Інактивацію ЛДГ проводили в середовищі, яке містило 20 мкМ FeSO_4 і різні концентрації H_2O_2 (10, 30, 50 мМ), а також – 50 мМ H_2O_2 і різні концентрації FeSO_4 (25, 50, 100, 250, 500 мкМ). Концентрація протеїну в розчині, в якому здійснювали інактивацію ензиму, була 10 мкг/мл. У кожному випадку активність ЛДГ визначали у двох зразках: 1) ензим

інкубували в дистильованій воді; 2) ензим інкубували в середовищі КФБ чи НЕРЕС з додаванням пероксиду водню та сульфату заліза. За 100% приймали активність ензиму в першому зразку.

Кінетичні характеристики ензимів – K_M для NADH та пірувату, V_{\max} і I_{50} для пірувату – розраховували за допомогою комп'ютерної програми KINETICS [15]. Дані представлено як $M \pm m$. Статистичне оброблення результатів здійснювали, використовуючи t -критерій Стьюдента.

Результати та обговорення

Одержані дані свідчать про те, що специфічна активність ЛДГ з печінки і білих м'язів карася сріблястого, при концентрації сульфату амонію у діапазоні насичення 52–55% перевищує таку у вихідному гомогенаті з печінки у три рази, а в гомогенаті з білих м'язів у чотири рази. Активність ЛДГ у гомогенатах печінки і білих м'язів дорівнює близько 1 од. акт./мг протеїну. Максимальна активність ЛДГ незалежно від способу висолювання для протеїнових фракцій, які осаджували при певних концентраціях сульфату амонію, є незмінною. Виділена протеїнова фракція з найвищою активністю ЛДГ містила 21% ензиму для ЛДГ з печінки і 29% для ЛДГ із білих м'язів. Частково очищені препарати ЛДГ з тканин карася порівнювали за кінетичними параметрами. У жодному з експериментів не виявлено відхилення від кінетики Міхаеліса–Ментен ($n_H = 1$). У частково очищеного ензиму з печінки і білих м'язів K_M для NADH є майже однаковою ($18,8 \pm 5,5$ мкМ і $24,0 \pm 5,9$ мкМ відповідно). Показник K_M для NADH (ЛДГ печінки) удвічі нижче від такого з печінки коропи [16], з яким збігається одержана нами величина K_M для NADH з білих м'язів. У наших експериментах значення K_M для пірувату ензиму з печінки карася дорівнює $37,5 \pm 18,0$ мкМ і дещо відрізняється від K_M ензиму з білих м'язів, яке дорівнює $26,6 \pm 7,0$ мкМ, проте ця різниця статистично невірогідна. G. Tripathi і O. Shukla [7], досліджуючи лактатдегідрогеназу печінки *Clarias batrachus*, одержали схожі результати (K_M для пірувату становила 32 мкМ). J. Cronczewska та колеги [17] вивчали ізоензими лактатдегідрогенази *Clupea harengus* і виявили, що K_M для пірувату ензиму з білих м'язів – 220 мкМ, що майже у вісім разів перевищує одержаний нами показник для карася сріблястого.

ЛДГ із печінки має відносно низьку V_{\max} ($1,85 \pm 0,31$ од. акт./мг протеїну) порівняно

з аналогічним показником для ЛДГ з білих м'язів ($3,74 \pm 0,27$ од. акт./мг протеїну). Значення I_{50} для ЛДГ із печінки в наших експериментах дорівнює $9,92 \pm 1,09$ мМ і вірогідно відрізняється від I_{50} ензиму з білих м'язів, яке дорівнює $5,87 \pm 1,39$ мМ ($P < 0,05$) (рис. 1). Подібний характер інгібування виявлено для ЛДГ деяких антарктичних риб [18], а також *S. harengus*: активність ензиму з м'язів при вищих концентраціях пірувату (1–5 мМ) стрімко знижувалась [17]. Аналізуючи одержані результати, можна дійти висновку, що ЛДГ з білих м'язів та печінки карася сріблястого мають подібні кінетичні характеристики. ЛДГ з білих м'язів карася виявляє максимальну активність при рН 7,5, а ензим з печінки при рН 8,5 (рис. 2).

Система окислення Fe^{2+}/H_2O_2 часто використовується в експериментах з окисної інактивації ензимів [19–21]. Слід зазначити, що концентрації йонів заліза та пероксиду водню, які необхідні для досягнення певного ступеня інактивації, залежать як від стійкості ензиму до окислення, так і від його концентрації при інактивації [19]. Повністю очищені ензими інактивуються при нижчих концентраціях пероксиду водню та йонів двовалентного заліза, ніж неочищені або очищені частково [19, 22]. В цій роботі проведено часткове очищення ЛДГ, і концентрація протеїну в інкубаційній суміші під час інкубації в системі Fe^{2+}/H_2O_2 дорівнює 10 мкг/мл.

Після інактивації ЛДГ протягом 2,5 хв у 50 мкМ $FeSO_4$ (за відсутності H_2O_2) активність ензиму знижується на 52%, тоді як у присутності 10 мМ H_2O_2 та 50 мкМ $FeSO_4$, його ак-

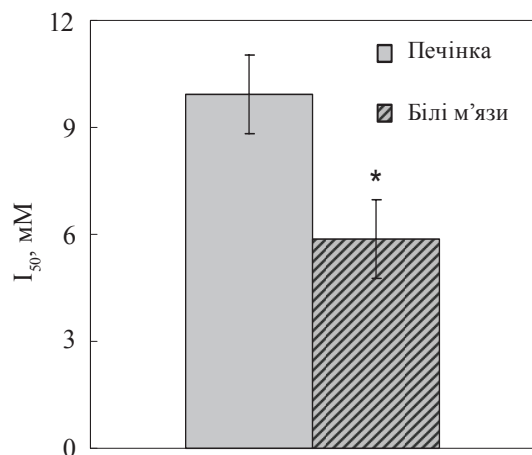


Рис. 1. I_{50} для ЛДГ з білих м'язів і печінки карася сріблястого. *Значення вірогідно відмінні між собою ($M \pm m$; $n = 3$; $P < 0,025$)

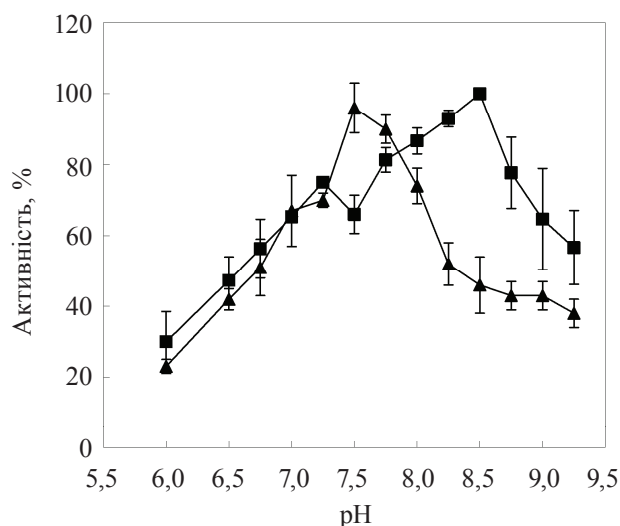


Рис. 2. Вплив значення рН середовища на активність ЛДГ: \blacktriangle — з білих м'язів, \blacksquare — з печінки. Активність надана у відсотках відносно максимального значення ($M \pm m$; $n = 3$)

тивність становить 20% від початкової. Отже, йони заліза призводять до часткової інактивації ензиму, проте у присутності пероксиду водню ступінь інактивації істотно зростає (рис. 3). Подібну інактивацію багатьох ензимів спостерігали інші дослідники. У роботі L. Szweda та E. Stadtman [19] при дослідженні інактивації глюкозо-6-фосфатдегідрогенази

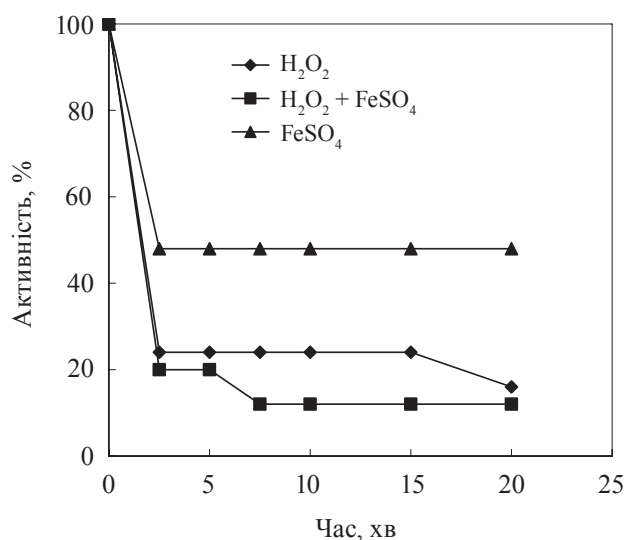


Рис. 3. Залежність активності ЛДГ з білих м'язів від часу інкубації ензиму у присутності H_2O_2 , $H_2O_2 + FeSO_4$ та $FeSO_4$. Активність надана у відсотках відносно активності у зразку, в якому ензим інкубували в дистильованій воді. Наведені дані типового експерименту

Lactobacillus mesenteroides було встановлено, що активність ензиму зменшується на 50% за перші 20 с інкубації у присутності 10 мкМ H₂O₂ та 10 мкМ FeSO₄. Аналогічний ефект описано в роботі Господарьова Д. В. та співавт. [20].

Інактивація ЛДГ йонами заліза за відсутності пероксиду водню можна пояснити зв'язуванням їх з боковими групами амінокислотних залишків, зокрема гістидину, глутамінової та аспарагінової кислот тощо [23]. Додавання пероксиду водню в розчин, де знаходяться йони заліза та ензим, призводить до утворення гідроксильних радикалів, які окислюють переважно амінокислоти, що знаходяться поблизу місця зв'язування йонів заліза [19, 24–26]. Інкубація ЛДГ в середовищі, що містить Fe²⁺ і H₂O₂, призводить до інактивації ензиму, який може втрачати активність різними шляхами. Одним з них є модифікація центрів зв'язування субстрату та коензиму, як описано у роботі L. Szweda та E. Stadtman [19]. У дослідженнях з інактивації глутамінсинтетази *Escherichia coli* в системі Fe²⁺/H₂O₂ виявлено, що ензим інактивується вже внаслідок окислення тільки одного залишку гістидину, найближче розташованого до місця приєднання йонів заліза [27]. Відомо, що крім гістидину чутливим до окислення є залишки цистеїну, аргініну та проліну [10].

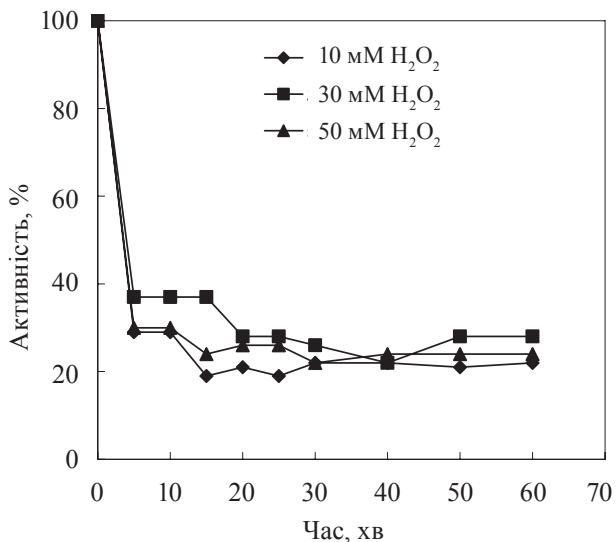


Рис. 4. Залежність активності ЛДГ з білих м'язів від часу інкубації ензиму у присутності 20 мкМ FeSO₄ та різних концентрацій H₂O₂ (10, 30, 50 мМ). Активність надана у відсотках відносно активності у зразку, в якому ензим інкубували в дистильованій воді. Наведено дані типового експерименту

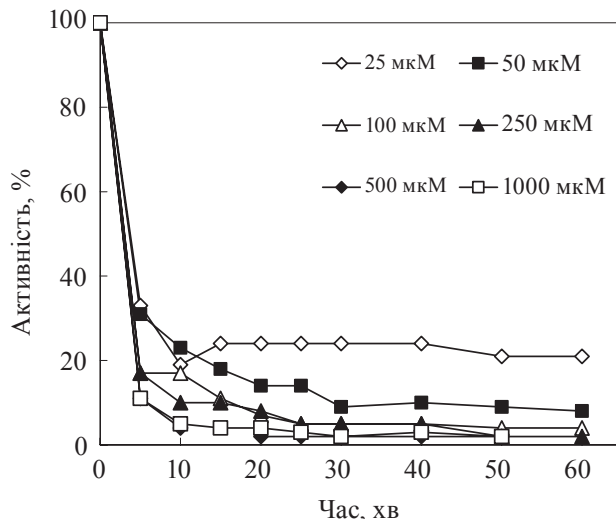


Рис. 5. Залежність активності ЛДГ з білих м'язів від часу інкубації ензиму у присутності 50 мМ H₂O₂ та різних концентрацій FeSO₄. Активність надана у відсотках відносно активності у зразку, в якому ензим інкубували в дистильованій воді. Наведено дані типового експерименту

Інактивацію ЛДГ проводили в середовищі, яке містило 20 мкМ FeSO₄ і різні концентрації H₂O₂ (10, 30, 50 мМ) або 50 мМ H₂O₂ і різні концентрації FeSO₄ (25, 50, 100, 250, 500 мкМ) (рис. 4, 5).

При інкубації ензиму протягом 5 хв з H₂O₂ (10–50 мМ) і FeSO₄ (20–500 мкМ), приблизно половина початкової активності втрачається. Подальше збільшення часу інактивації ензиму в суміші, де проводили інактивацію, незначно впливає на його активність. Ступінь інактивації ензиму зростає у разі збільшення концентрації іонів заліза і пероксиду водню (рис. 4, 5).

В роботі ми також дослідили вплив КФБ і HEPES на процес інактивації ЛДГ, для чого у середовище інактивації додавали або 25 мМ КФБ (pH 7,0) або 25 мМ HEPES (pH 7,0), (рис. 6; А, Б). Виявлено, що інактивація ензиму у присутності HEPES відбувається дещо швидше, ніж у КФБ. Наприклад, після 5 хв інкубації у КФБ з 30 мМ H₂O₂ та 20 мкМ FeSO₄, активність ЛДГ з печінки вірогідно знижується до 80%, а в HEPES – до 60% (рис. 6, Б). Збільшення часу інактивації призводить до вірогідного зниження активності, зокрема, на 20-ту хв інкубації активність ензиму у разі додавання КФБ становить 72%, а за додавання HEPES – 57%. Подібний характер інактивації спостерігається і в процесі інактивації ЛДГ із білих м'язів (рис. 6, А). Ті ж самі концентрації пероксиду водню і сульфату заліза у разі до-

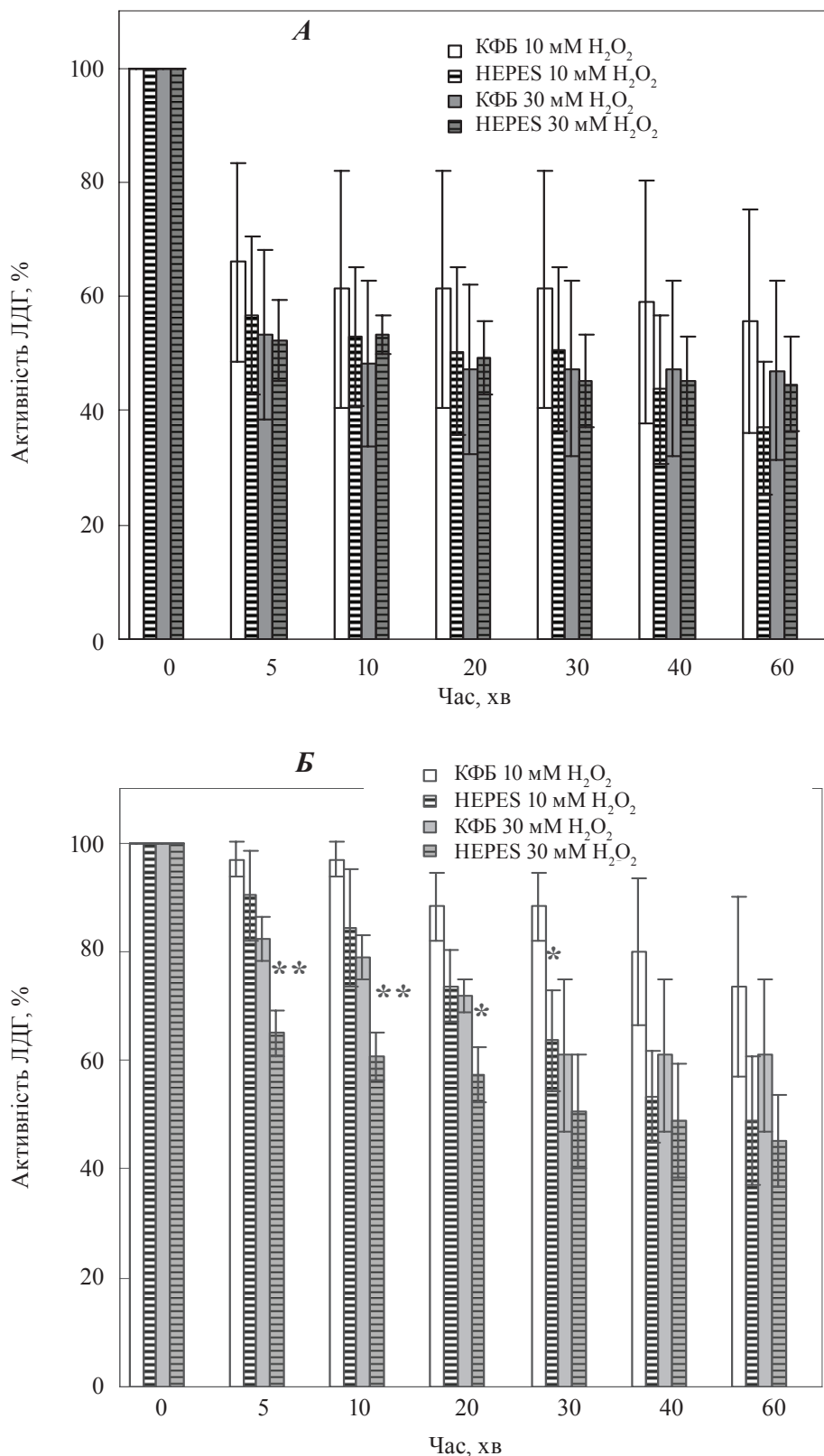


Рис. 6. Залежність активності ЛДГ з білих м'язів (А) і печінки (Б) від часу інкубації ензиму в різних буферних системах. Концентрація FeSO₄ дорівнює 20 мкМ, а H₂O₂ – 10 і 30 мМ. Активність подана у відсотках відносно активності у зразку, в якому ензим інкубували в дистильованій воді. * Вірогідно відмінне від відповідних значень у калій-фосфатному буфері P < 0,05, **P < 0,025; (M ± m; n = 3)

давання калій-фосфатного буфера зменшують активність до 60%, а з HEPES – до 38%. Отже, ензим швидше інактивується у буферному середовищі, яке містить HEPES, ніж у такому самому з фосфатом.

Таким чином, результати наших експериментів свідчать про те, що в системі $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ відбувається інактивація лактатдегідрогенази, проте механізм інактивації залишається нез'ясованим. За зазначених умов спостерігається зменшення максимальної активності цього ензиму, що може відбуватися за рахунок відповідного зменшення кількості його активних молекул, але K_M не змінюється.

Автори щиро вдячні О. І. Кубрак за консультації під час проведення експериментів і обговорення рукопису статті.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СВОЙСТВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ БЕЛЫХ МЫШЦ И ПЕЧЕНИ КАРАСЯ СЕРЕБРИСТОГО (*Carassius auratus* L.)

Е. Ю. Василькив, В. И. Луцк

Прикарпатский национальный университет им. Василя Стефаныка, Ивано-Франковск, Украина;
e-mail: lushchak@pu.if.ua

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) из печени и белых мышц карася серебристого *Carassius auratus* была частично очищена путем фракционирования сульфатом аммония. Для энзима, полученного из печени, $V_{\max} = 1,85 \pm 0,31$ ед. акт./мг протеина, а из белых мышц – $3,74 \pm 0,27$ ед. акт./мг протеина. ЛДГ из печени была менее чувствительна к субстратному ингибированию ($I_{50} = 9,92 \pm 1,09$ мМ), по сравнению с аналогичным показателем для ЛДГ белых мышц ($I_{50} = 5,87 \pm 1,39$ мМ). Установлены оптимумы рН исследуемых изоэнзимов, равные 7,0–8,0 и 7,25–8,75 для ЛДГ белых мышц и печени соответственно. Проведена инактивація частинно очищеної ЛДГ в системі свободнорадикального окислення $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$. При інкубації ензиму в течение 5 минут с H_2O_2 (10–50 мМ) и FeSO_4 (20–500 мкМ), теряется приблизительно половина начальной активности. Степень инактивації ензиму возрастает с увеличением концентрации ионов железа и пероксида водорода. При інкубації в присутствії 20 мкМ FeSO_4 и 10 мМ H_2O_2 в течение 60 мин ензим из белых мышц теряет 44% активности, а ензим из печени – 26%, независимо от того, какой буфер использовали.

Ключевые слова: лактатдегідрогеназа, *Carassius auratus*, інактивація.

COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF LACTATE DEHYDROGENASE PROPERTIES FROM WHITE MUSCLES AND LIVER OF GOLDFISH (*Carassius auratus* L.)

O. Yu. Vasylykiv, V. I. Lushchak

Vassyl Stephanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine;
e-mail: lushchak@pu.if.ua

Summary

Lactate dehydrogenase (LDH) from the liver and white muscles of the gold fish *Carassius auratus* was partially purified by differential precipitation with ammonium sulfate. The enzyme from the liver had relatively low $V_{\max} = 1.85 \pm 0.31$ U/mg protein, the muscle enzyme – 3.74 ± 0.27 U/mg protein. LDH from the liver was less sensitive to substrate inhibition ($I_{50} = 9.92 \pm 1.09$ mM) compared to white muscles isozyme ($I_{50} = 5.87 \pm 1.39$ mM). The studied isozymes had pH-dependencies with pH optima at 7.0–8.0 and 7.25–8.75 for LDH from the white muscle and liver, respectively. In this work the inactivation of partially purified LDH in the system free radicals oxidations $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ has been conducted. During incubation for 5 min of both isozymes with H_2O_2 (10–50 mM) and FeSO_4 (20–500 μM), approximately 50% of their initial activities were lost. The level of enzyme inactivation increased with the increase of iron ion and hydrogen peroxide concentrations. During incubation in the presence of 20 μM FeSO_4 and 10 mM H_2O_2 for 60 min white muscles isozyme lost 44% while liver isozyme – 26%, independent of buffer which was used.

Key words: lactate dehydrogenase, *Carassius auratus*, inactivation.

1. Луцк В. И. // Биохимия. – 1992. – 57, № 8. – С. 1142–1153.
2. Maxime V., Pichavant K., Boeuf G. et al. // Fish Physiol. Biochem. – 2000. – 22. – P. 51–59.
3. Chippari-Gomes A. R., Leitao M. A. B., Paula-Silva M. N. et al. // Genet. Mol. Evol. – 2003. – 26. – P. 27–32.
4. Bailey G. S., Wilson A. C. // J. Biol. Chem. – 1968. – N 22. – P. 5843–5853.
5. Ziętara M. S., Skorkowski E. F. // Comp. Biochem. Physiol. – 1993. – 105. – P. 349–356.

6. *Cronczewska J., Zietara M. S., Biegniewska A. et al.* // *Ibid.* – 2003. – **134B**. – P. 399–406.
7. *Tripathi G., Skukla S. P.* // *Biochem. Arch.* – 1988. – **4**. – P. 25–34.
8. *Fridovich I.* // *Mol. Cell. Biol.* – 1998. – **25**. – P. 1–14.
9. *Луцк В. И.* // *Биохимия.* – 2001. – **66**, № 5. – С. 592–609.
10. *Луцк В. И.* // Там же. – 2007. – **72**, № 8. – С. 995–1017.
11. *Stadtman E. R.* // *Science.* – 1992. – **257**, N 5074. – P. 1220–1224.
12. *Луцк В. И.* // *Укр. біохім. журн.* – 1992. – **62**, № 6. – С. 38–42.
13. *Северин С. Е., Соловьева Г. А.* Практикум по биохимии. – М.: Изд-во МГУ. – 1989. – 509 с.
14. *Bradford M. M.* // *Anal. Biochem.* – 1976. – **72**. – P. 289–292.
15. *Brooks S. P. J.* // *Bio Techniques.* – 1992. – **13**. – P. 906–911.
16. *Кубрак О. І., Луцк О. В., Луцк В. І.* // *Укр. біохім. журн.* – 2008. – **80**, № 4. – С. 35–41.
17. *Cronczewska J., Biegniewska A., Zietara M. S. et al.* // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2003. – **137C**. – P. 207–311.
18. *Fitch N. A.* // *Ibid.* – 1988. – **91B**, N 4. – P. 671–676.
19. *Szweda L. I., Stadtman E. R.* // *J. Biol. Chem.* – 1992. – **267**, N 5. – P. 3096–3100.
20. *Господарьов Д. В., Байляк М. М., Луцк В. І.* // *Укр. біохім. журн.* – 2005. – **77**, № 1. – С. 88–94.
21. *Гусак В. В., Луцк В. І.* // Там само. – 2007. – **79**, № 6. – P. 42–47.
22. *Hermes-Lima M., Storey K. B.* // *Mol. Cell. Biochem.* – 1993. – **124**. – P. 149–158.
23. *Jeffery J., Hobbs L., Jornvall H.* // *Biochem.* – 1985. – **24**, N 3. – P. 666–671.
24. *Davies K. J. A., Delsignore M. E., Lin S. W.* // *J. Biol. Chem.* – 1987. – **262**, N 20. – P. 9902–9907.
25. *Davies K. J. A., Delsignore M. E.* // *Ibid.* – P. 9908–9913.
26. *Davies K. J. A., Lin S. W., Pacifici R.* // *Ibid.* – P. 9914–9920.
27. *Oliver C. N., Levine R. L., Stadtman E. R.* // *J. Amer. Geriatr. Soc.* – 1987. – **37**. – P. 947–956.

Отримано 12.03.2009