

ОСОБЕННОСТИ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА У НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ЖИВОТНОГО МИРА

Г. В. ПЕХИМЕНКО¹, Т. М. КУЧМЕРОВСКАЯ²

¹Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь, Украина;

²Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

Методы инфракрасной (ИК) спектроскопии и кругового дихроизма (КД) широко применяются для обнаружения изменений в структуре протеинов. Эти методы были использованы нами для анализа особенностей вторичной структуры сывороточных альбуминов (СА) некоторых представителей класса пресмыкающихся, таких как: среднеазиатская черепаха (*Testudo horsfieldi*), уж водяной (*Natrix tessellata*), уж обыкновенный (*Natrix natrix*) и класса птиц: гусь домашний (*Anser Anser*), курица домашняя (*Gallus domesticus*), утка домашняя (*Anas platyrhynchos*) и голубь сизый (*Columba livia*). Проанализировав ИК-спектры и спектры, полученные методом КД сывороточных альбуминов представителей обоих классов, установили, что в формировании конформационной структуры полипептидной цепи альбуминов важная роль принадлежит не только β -складчатой структуре и α -спиральным участкам, которые образуют стойкую α -конформацию, но и неупорядоченным участкам молекул этих протеинов, доля которых значительна. Исследование вторичной структуры СА указанных представителей пресмыкающихся и птиц показало определенное перераспределение, в зависимости от вида животных, между содержанием в молекуле этих протеинов β -складчатой структуры, α -спиральных участков и неупорядоченной структуры.

Ключевые слова: вторичная структура, сывороточный альбумин, ИК-спектроскопия, круговой дихроизм, представители классов пресмыкающихся и птиц.

Среди сывороточных протеинов крови наибольшая доля (около 60%) принадлежит сывороточному альбумину (СА), синтез которого происходит в печени. Альбумин — один из немногих протеинов плазмы крови, которые не являются гликопротеидами. СА относится к глобулярным протеинам и является одним из наиболее изученных протеинов плазмы крови, особенно у человека [1, 2]. Несмотря на то, что существует много сведений о статической структуре СА человека (длинная полипептидная цепь, состоящая из 609 аминокислотных остатков с преобладанием остатков цистеина) [2], тем не менее, вторичная и третичная структуры этого протеина изучены недостаточно, особенно у других представителей живых организмов. Считают, что молекулярная гибкость СА человека осуществляется за счет движения трех основных его доменов со сходной трехмерной структурой [2], которая в свою очередь зависит от различных условий [2, 3]. СА является основным регулятором коллоидно-осмотического давления плазмы крови и других биологических жидкостей. Более того, одной из основных особенностей альбу-

минов является их высокая способность связывать и транспортировать различные соединения (протеины, гормоны, жирные кислоты, пигменты, в частности билирубин, синтетические лекарственные вещества, такие как антибиотики, сульфамиды и т. п.). Это осуществляется благодаря особенностям их структуры и наличию как гидрофильных, так и гидрофобных участков связывания [4–6].

Несмотря на то, что изучение физико-химических свойств альбуминов в аспекте их функциональной активности началось еще в прошлом веке, тем не менее, исследование изменений их внутримолекулярной структуры в зависимости от их генетических особенностей и потенциальных возможностей изменяться у разных видов живых организмов при различных условиях их микроокружения, остается актуальным и в настоящее время [7–14].

К тому же, выяснение особенностей структурно-функциональных свойств протеинов способствует установлению связи между внутренними закономерностями их структуры.

Целью данной работы является исследование вторичной структуры СА у некоторых

представителей классов пресмыкающихся и птиц на основании анализа и сравнения ИК-спектров и спектров, полученных методом кругового дихроизма (КД).

Материалы и методы

Исследования были проведены на СА следующих представителей живых организмов – класс птиц: гусь домашний (*Anser anser*), курица домашняя (*Gallus domesticus*), утка домашняя (*Anas platyrhynchos*), голубь сизый (*Columba livia*); класс пресмыкающихся: черепаха среднеазиатская (*Testudo horsfieldi*), уж водяной (*Natrix tessellata*), уж обыкновенный (*Natrix natrix*). В каждой видовой группе было 12–15 особей. При проведении исследований учитывали сезонную вариабельность показателей, поэтому забор крови у всех выбранных видов позвоночных животных для выделения альбуминов проводили в осенний период времени. СА половозрелых особей выбранных представителей двух классов позвоночных были выделены и очищены препаративно, а с помощью электрофореза в полиакриламидном геле была подтверждена их чистота [15, 16].

Для исследований вторичной структуры альбуминов использовали метод ИК-спектроскопии, который на основании анализа связи между характером амидных колебаний и конфигурацией полипептидной цепи, позволяет решить многие вопросы молекулярной биологии [17–19]. Более того, анализ ИК-спектров дает возможность на молекулярном уровне оценивать вторичную и в некоторой степени третичную структуру протеинов.

Образцы препаратов для ИК-спектроскопии были приготовлены на вазелиновом масле, поскольку вода и некоторые органические растворители, очень сильно поглощают лучи в инфракрасной области спектра. ИК-спектры лиофилизированных, электрофоретически гомогенных образцов СА были записаны в области 4000–400 см⁻¹ на двухлучевом спектрофотометре Specord 75 IR (Германия) при комнатной температуре. Для уменьшения фона при снятии спектров поглощения использовалась техника прессования с бромидом калия (твердые растворы) при соотношении протеин: бромистый калий (KBr) 1 : 100. Об устойчивости структуры изучаемых протеинов по отношению к перетиранию с KBr и давлению судили по идентичности спектров прессованных образцов со спектрами суспензий в вазелиновом масле. Считали, что устойчивость протеинов после растирания со-

храняется, если спектры прессованных образцов протеинов с KBr совпадают со спектрами суспензий в вазелиновом масле.

Для каждого вида СА значение частот и абсорбций, полученных из спектров трёх независимых прессованных образцов, усреднялись; оценка точности измерений проводилась методами математической статистики. Принятая методика, обеспечивала определение частот с ошибкой не более (\pm) 2 см⁻¹ в области 1700–1300 см⁻¹, и (\pm) 5 см⁻¹ в области 3500–2800 см⁻¹, относительная погрешность определения абсорбций не превышала 2%. Во всех, снимаемых нами ИК-спектрах, наблюдались (свойственные протеинам) полосы поглощения при ~3400 см⁻¹ (ОН-группы); ~ 3300 см⁻¹ (полоса Амид А); ~ 3190 см⁻¹ (Амид В); 2850–3000 см⁻¹ (алифатические СН, СН₂ и СН₃-группы); 1630–1660 см⁻¹ (Амид I); 1510–1550 см⁻¹ (Амид II); а также более слабые полосы при ~ 1450, 1395, 1305, 1240, 1160, 1110, 1060 см⁻¹ и широкая диффузная полоса при 500–700 см⁻¹.

Для того, чтобы убедиться в том, что ИК-спектры отражают особенности вторичной структуры СА нами был использован также метод кругового дихроизма (КД), который основан на оценке оптической активности биологических макромолекул. При использовании этого метода наблюдается неравномерное поглощение левой и правой составляющих циркулярно поляризованной световой волны, что выражают в ее эллиптичности (θ). Метод является весьма чувствительным к влиянию конформации протеина на общее поглощение хромофоров молекулы в ультрафиолетовой области и с успехом используется для характеристики вторичной структуры протеинов [20, 21].

Спектры КД регистрировали на дихрографе «Jasco» J-500 А (Япония) в кювете шириной 1,0 см при температуре 20 °С, в диапазоне длин волн от 240 до 200 нм. Удельную молярную эллиптичность рассчитывали по формуле:

$$\theta = \frac{10 \cdot M \cdot \Delta \cdot a}{l \cdot C},$$

где M – средний молекулярный вес аминокислотного остатка, принятый за 113,5; a – усиление сигнала ($10 \cdot 10^{-3}$ град/см); Δ – высота пика в см; l – ширина кюветы в см; C – концентрация протеина в мг/мл.

Удельную молярную эллиптичность выражали в град·см²·децимоль⁻¹.

Точную концентрацию протеинов определяли и рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{A_{280} - A_{360}}{0,51},$$

где A_{280} – показатель экстинкции протеинов при 280 нм, A_{360} – показатель экстинкции раствора при 360 нм, 0,51 – поглощение раствора протеинов (1 мг/мл) при длине волны 280 нм, измеренного на спектрофотометре UV-2100 «Shimadzu» (Япония). На основании полученных спектров строили кривые в единицах удельной молярной эллиптичности. Процентное содержание различных структур в протеинах оценивали по методу [22] с помощью программного пакета «STRUKTURE» (Институт инженерной иммунологии, пос. Любучаны, Московской области).

Результаты и обсуждение

Ранее проведенные исследования продемонстрировали отличия в аминокислотном составе изучаемых СА некоторых представителей классов пресмыкающихся и птиц. Было обнаружено повышенное содержание как суммы аминокислот: Асп+Асн и Глу+Глн, так и отдельных аминокислот: Лей, Лиз и Ала, а также низкое содержание Тир, Цис, Мет и Гис в СА птиц по сравнению с таковыми у пре-

смыкающихся [23]. Однако отношение суммы гидрофобных аминокислот к гидрофильным было очень близким, и внутри и между классами исследуемых представителей. Основываясь на полученных данных, было целесообразно исследовать, отражаются ли изменения в аминокислотных составах СА на их вторичной структуре.

Нами были получены ИК-спектры в области 4000–400 см^{-1} (рис. 1–7) лиофилизированных и электрофоретически гомогенных образцов альбуминов для представителей классов пресмыкающихся и птиц.

При их сравнительном анализе было обнаружено, что ИК-спектры СА всех исследованных представителей в значительной мере сходны (рис. 8). Так, на полученных спектрах наблюдали те же характерные полосы поглощения, свойственные биополимерам: при 3400 см^{-1} – (ОН-группы); отчетливо проявлялось поглощение при 3300 см^{-1} – (полоса Амид А); 3190 см^{-1} – (Амид В); 2850–3000 см^{-1} – (алифатические CH , CH_2 и CH_3 -группы); 1630–1660 см^{-1} (Амид I); 1550- (Амид II); а также более слабые полосы при 1450, 1395, 1305, 1240, 1160, 1110, 1060 см^{-1} и широкая диффузная полоса при 500–700 см^{-1} .

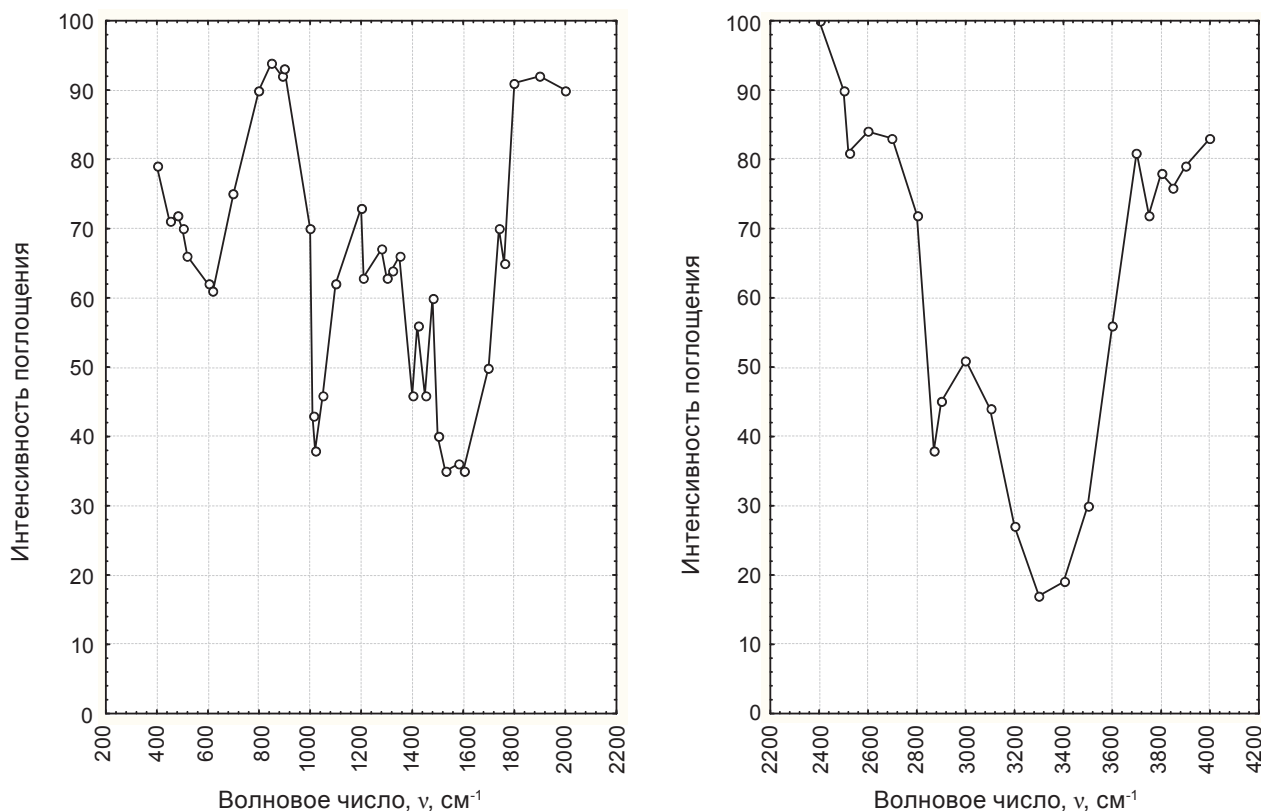


Рис. 1. ИК-спектры СА гуся

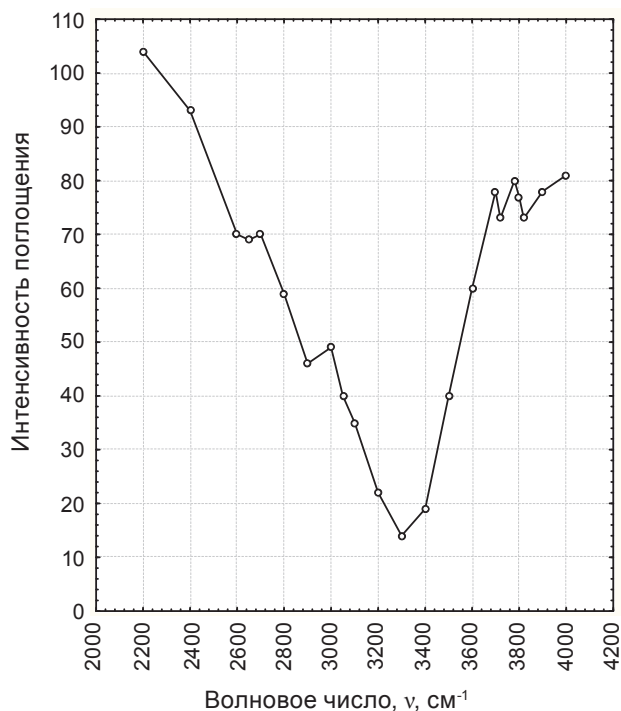
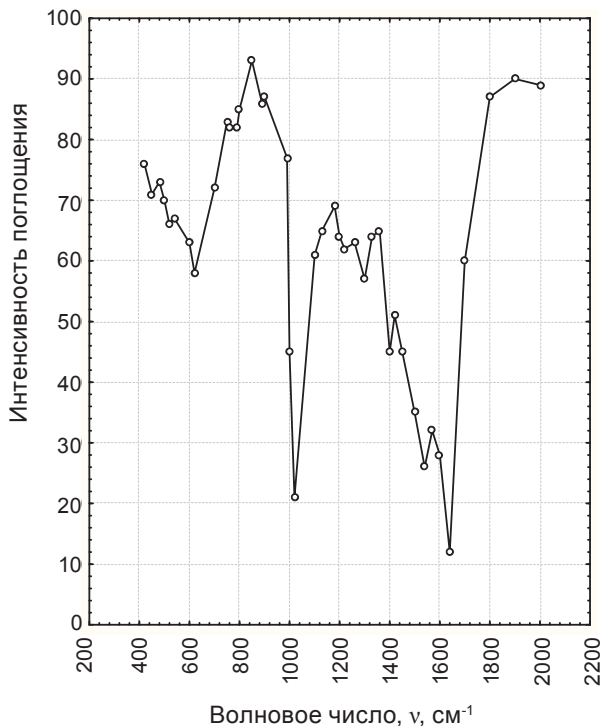


Рис. 2. ІК-спектри СА куриці

Общим для всех ІК-спектров является сильное перекрытие полос колебаний Амид А и Амид В, в результате чего образуется практически сплошная широкая полоса интенсив-

ного поглощения, на фоне которой полосы Амид В проявляются лишь в виде небольших плеч, а колебание Амид А существенно доминирует.

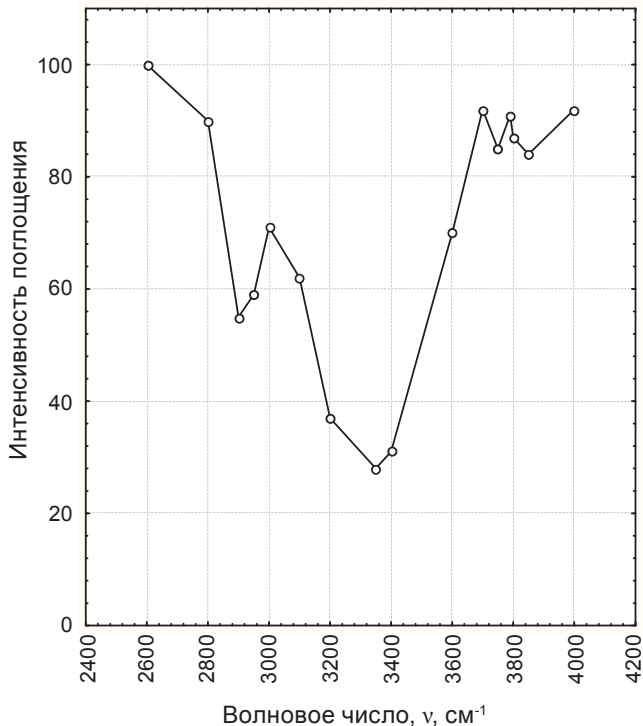
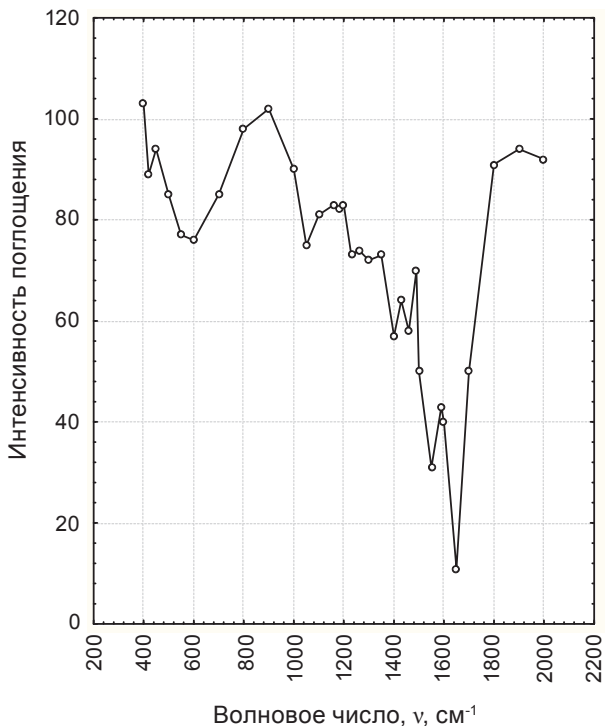


Рис. 3. ІК-спектри СА утки

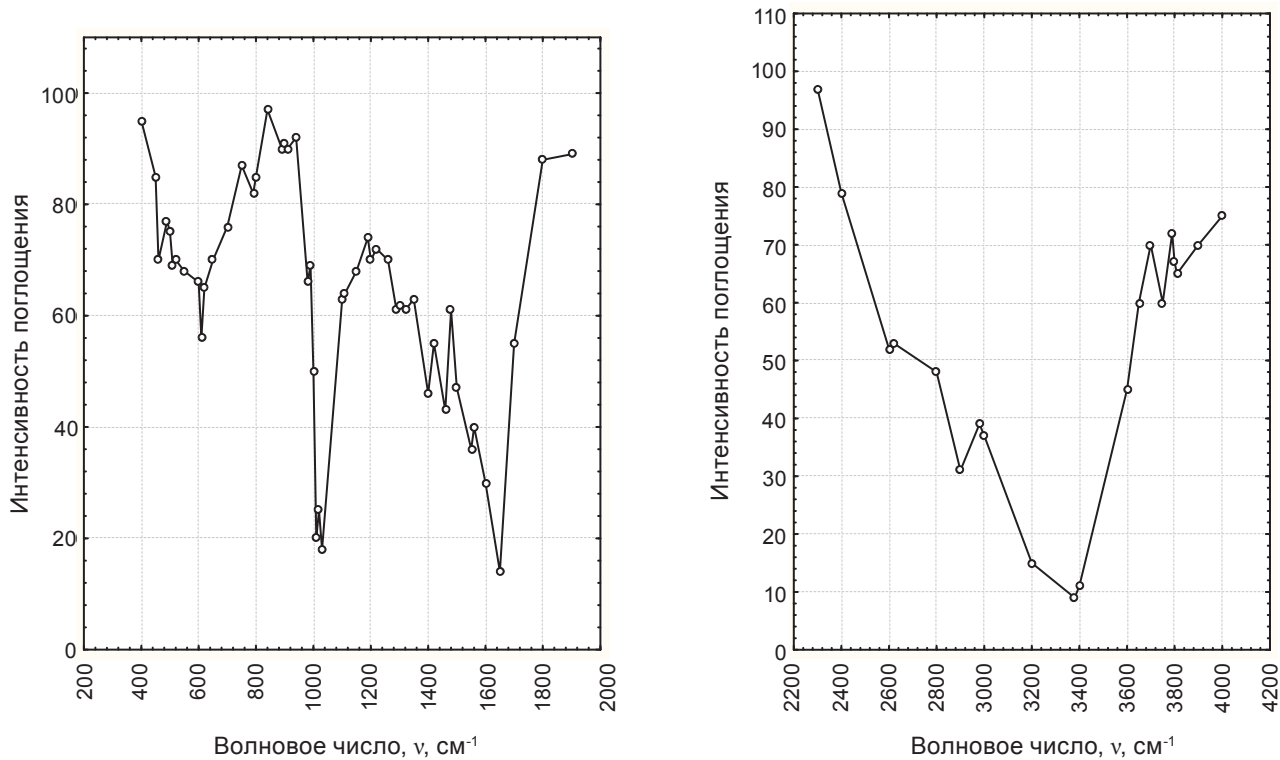


Рис. 4. ИК-спектры поглощения СА голубя



Рис. 5. ИК-спектры СА ужа водяного

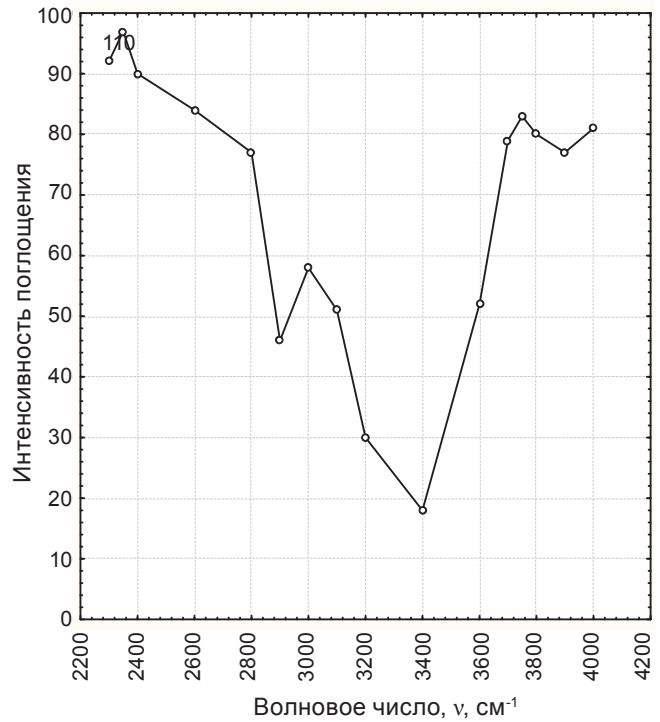
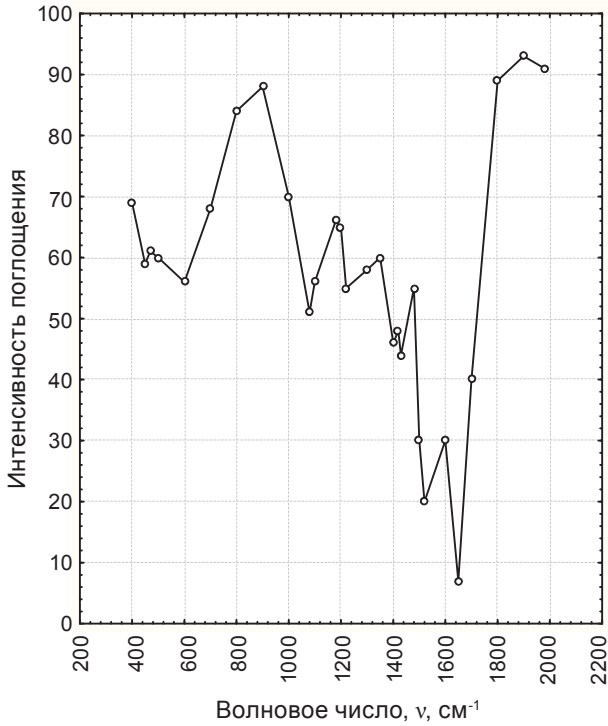


Рис. 6. ИК-спектры СА ужа обыкновенного

Детальный анализ области поглощения полос Амид I и Амид II позволяет высказать предположение, что в конформационной структуре полипептидных цепей всех изучен-

ных СА значительное количество составляют неупорядоченные участки. Об этом свидетельствуют, прежде всего, частоты максимумов полос Амид I, близкие к характерному для

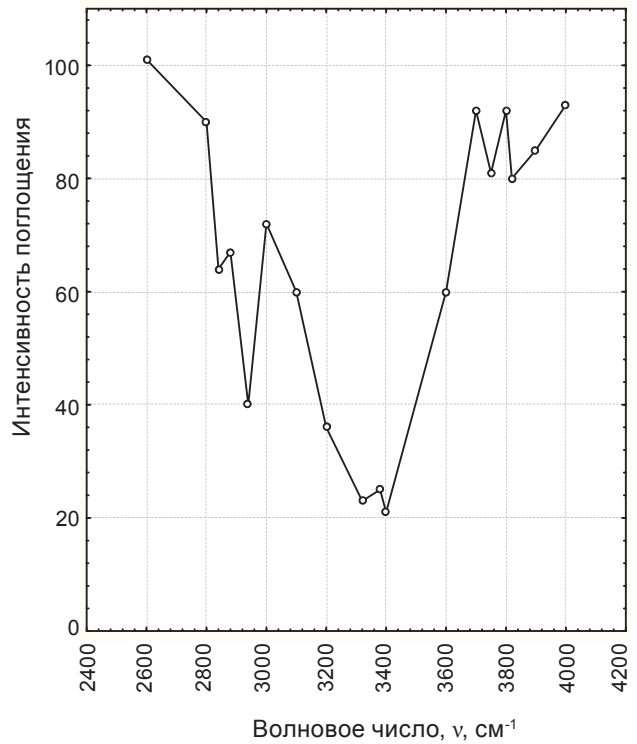
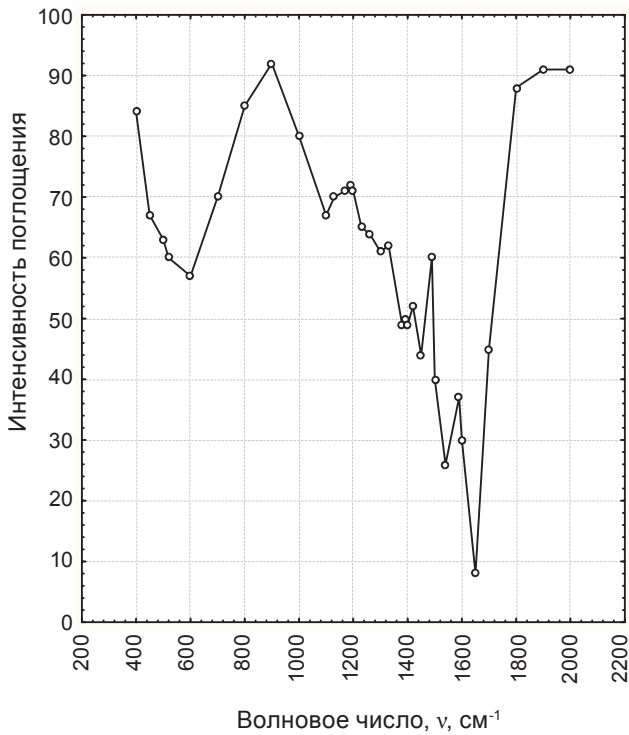


Рис. 7. ИК-спектры СА черепахи

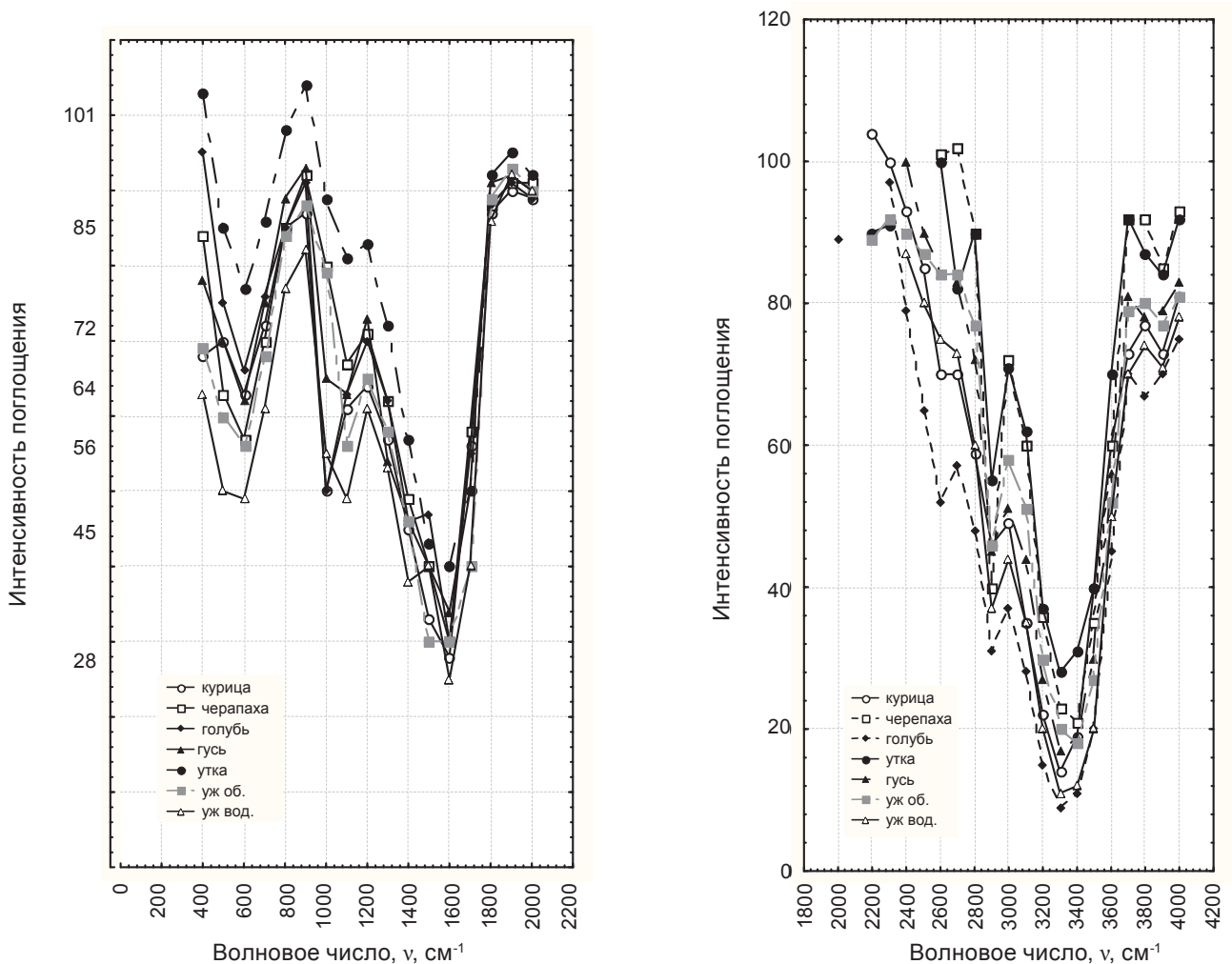


Рис. 8. ИК-спектры поглощения альбуминов некоторых представителей классов пресмыкающихся и птиц

неупорядоченных структур твердых протеинов значению 1658 см^{-1} , а также значительная интенсивность поглощения вблизи 1520 см^{-1} полос Амид II и большая полуширина суммарной полосы Амид A+Амид B. Более того, в структуре исследуемых протеинов, по всей вероятности, присутствует значительная доля α -спиральных участков (α -конформаций), которые свидетельствуют об устойчивой конформации полипептидной цепи, о чем можно судить по наличию поглощения вблизи 1540 см^{-1} в полосах Амид II. Из-за достаточно большой ширины полосы Амид I, не представляется возможным оценить вклад β -складчатой структуры на основании только наличия полосы 1630 см^{-1} во вторичную структуру исследуемых протеинов.

Для того, чтобы убедиться в правильности наших суждений относительно конформа-

ционных особенностей вторичной структуры исследуемых СА на основании полученных ИК-спектров, нами был использован еще метод кругового дихроизма, и по полученным спектрам были рассчитаны значения высоты пика $-\Delta$; молярная эллиптичность (θ) и построены графики зависимости молярной эллиптичности от длины волны (λ). Как видно (рис. 9) несмотря на то, что определение зависимости молярной эллиптичности от длины волны проводили в одинаковых условиях (концентрация альбуминов была одинаковой), высота пиков СА пресмыкающихся и птиц была разная. При этом, наибольшая зависимость θ от λ обнаружена в альбуминах курицы домашней и черепахи среднеазиатской, в то время как у утки домашней, ужа водяного и ужа обыкновенного эта зависимость была значительно меньшей. Тем не менее, характер

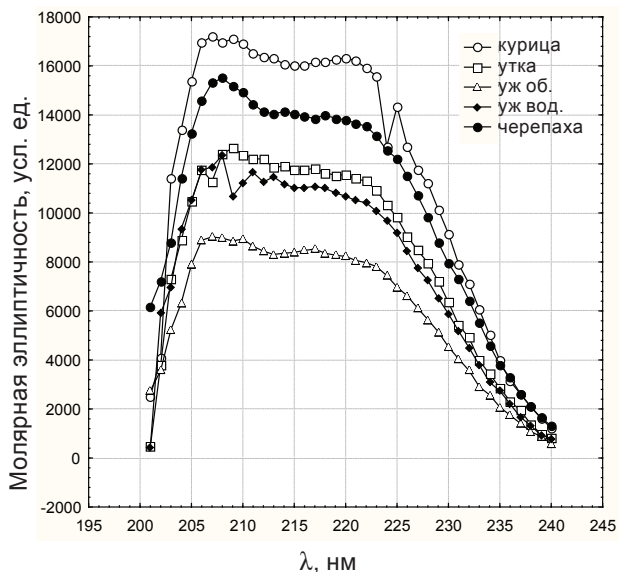


Рис. 9. Залежність молярної еліптичності (θ) від довжини хвилі (λ) СА представників класів пресмыкаючихся і птахів

єтих піків свідчить про те, що типи вторичної структури досліджуваних СА практично не відрізняються.

Було оцінено процентне вміщення різних структур в протеїнах згідно з методом [22] з допомогою програмного пакету «STRUKTURE», отримані дані представлені в таблиці. На основі цих даних стає очевидним, що на рівні вторичної конформаційної структури, для досліджуваних протеїнів характерно наявність α -спіралей, β -складчастої структури, а також неупорядкованої структури. Ці дані збігаються з раніше отриманими результатами по амінокислотному аналізу [23], оскільки вміщення Глн, Ала і Лей давало нам можливість передбачити, що в досліджуваних СА деяких представників пресмыкаючихся і

птиць повинно було бути, з однієї сторони підвищене вміщення α -спіральних ділянок, а з іншої – по вміщенню Вал, Іле і Мет можна було передбачати, що СА схильні до організації β -структури, що і підтвердили проведені нами дослідження. З допомогою методу КД вивчена вторична структура і інших протеїнів, зокрема трьох ізоформ аполіпопротеїна Е [21].

В результаті детального аналізу спектрів КД стало можливим виявити певні закономірності в формуванні вторичної структури досліджуваних протеїнів двох класів живих організмів.

На основі отриманих даних, всі досліджувані СА можна умовно розділити на дві групи: перша – курка домашня, черепаха середньазійська; друга – утка домашня, уж водяної, уж звичайний. Всередині між цими групами спостерігається схожість по формуванню типів вторичної структури СА. Так, у другій групі, відзначається переважання вміщення β -складчастої структури порівняно з вміщенням α -спіральних ділянок, а також досить високе вміщення неупорядкованої структури (табл.). В СА тварин першої групи, навпаки, переважають α -спіральні ділянки. Щодо кількості ділянок з неупорядкованою структурою, то воно виявилось практично однаковою всередині обох груп, хоча в першій групі, воно все ж було трохи вище.

При порівнянні вміщення α -спіральних ділянок, β -складчастої структури і неупорядкованої структури в досліджуваних альбумінах спостерігався розброс отриманих даних, який складав: по α -спіралі – 21,5%, β -складчастої структурі – 26% і по неупорядкованої структурі – 6,5%. Ці дані дозволяють відзначити, що во вторичній структурі досліджуваних СА неупорядкована структура

Характеристика вторичної структури СА деяких представників класів пресмыкаючихся і птахів з допомогою методу кругового дихроїзму ($M \pm m, n = 12$)

Клас	СА	Вміщення в молекулі альбумінів α -спіралей, β -складчастої структури, неупорядкованої структури (%)		
		α -спіраль	β -складчаста структура	неупорядкована структура
Птахи	Утка	28,50 \pm 0,01	41,50 \pm 0,01	30,00 \pm 0,01
	Курка	42,00 \pm 0,05	21,50 \pm 0,05	36,50 \pm 0,05
Пресмыкаючіся	Уж звичайн.	20,50 \pm 0,01	47,50 \pm 0,01	32,00 \pm 0,01
	Уж водяної	25,00 \pm 0,05	45,50 \pm 0,05	29,50 \pm 0,05
	Черепаха	33,50 \pm 0,05	29,50 \pm 0,05	37,00 \pm 0,05

является наиболее стабильной. Так, внутри выделенных групп по неупорядоченной структуре разброс составляет всего 0,5 и 2,5% (для первой и второй групп соответственно), тогда как по α -спиральной структуре 8,5 и 8%, а по β -складчатой структуре 6 и 8%.

Таким образом, использование двух методов (ИК-спектроскопии и КД) позволило обнаружить что, несмотря на филогенетические различия исследуемых представителей классов пресмыкающихся и птиц, их вторичные структуры молекул СА сходны и имеют, помимо β -складчатой структуры и α -спиральных участков, значительную часть неупорядоченной структуры.

Протеины с характерной для них неповторяющейся последовательностью аминокислотных остатков в полипептидной цепи имеют компактную глобулярную конформацию, которая необходима для реализации их биологических функций, что является перспективным при их использовании в отличии от различных синтетических гомополимеров или регулярных сополимеров, которые не имеют четко определенных конформационных структур. В последние годы внимание исследователей сосредоточено также на получении Ленгмюра–Шеффера ЛБ-пленок протеинов для записи и хранения информации в микроэлектронике и биотехнологии [24, 25]. Эта ЛБ-техника получения упорядоченных пленок протеинов стала незаменимой для создания биомолекулярных электронных устройств [26]. Для измерения биологических взаимодействий все чаще стали применять прямые оптические методы с использованием поверхностного плазмонного резонанса (ППР), которые имеют высокую чувствительность [27, 28]. При использовании метода ППР существенным является устранение неспецифических взаимодействий, что осуществляется благодаря использованию СА. Наиболее широко сейчас используется БСА, однако это не исключает возможности, что и исследуемые нами СА представителей классов пресмыкающихся и птиц найдут применение в развивающейся области создания сенсоров на основе наноматериалов (золото, серебро и т.п.) и дальнейшем использовании нанотехнологий. Более того, не исключено, что изучаемые альбумины могут также обладать антиоксидантными свойствами подобно БСА [29].

В заключение следует отметить, что даже в процессе филогенеза, сохраняется стабильность молекулы СА, по крайней мере на уровне их вторичной структуры, так как изменения в первичной и вторичной структуре альбуми-

нов в основном затрагивают инвариантные участки молекулы альбуминов, которые не отвечают за их функции, что свидетельствует о сохранении функциональной способности обратимо связывать различные как низко- так и высокомолекулярные соединения и транспортировать их.

Таким образом, на основании анализа ИК-спектров и спектров, полученных с помощью метода КД сывороточных альбуминов, представителей классов пресмыкающихся и птиц, становится очевидным, что в формировании конформационной структуры полипептидной цепи СА важная роль принадлежит не только β -складчатой структуре и α -спиральным участкам, которые образуют устойчивую α -конформацию, но и неупорядоченной структуре, на долю которой приходится значительная часть.

Обнаружено, что во вторичной структуре СА некоторых представителей пресмыкающихся и птиц существует определенное перераспределение, в зависимости от вида животных, между содержанием β -складчатой структуры, α -спиральными участками и неупорядоченной структурой.

ОСОБЛИВОСТІ ВТОРИННОЇ СТРУКТУРИ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ У ДЕЯКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ ТВАРИННОГО СВІТУ

Г. В. Пехіменко¹, Т. М. Кучмеровська²

¹Таврійський національний університет ім. В. І. Вернадського, Сімферополь, Україна;

²Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

Методи інфрачервоної (ІЧ) спектроскопії та кругового дихроїзму (КД) є придатними для виявлення змін у структурі протеїнів. Ці методи були використані нами для аналізу особливостей вторинної структури сироваткових альбумінів (СА) деяких представників двох класів – плазунів: середньоазіатська черепаха (*Testudo horsfieldi*), вуж водяний (*Natrix tessellata*) і вуж звичайний (*Natrix natrix*) та птахів: гусак домашній (*Anser Anser*), курка домашня (*Gallus domesticus*), качка домашня (*Anas platyrhyncha*) та сизий голуб (*Columba livia*). Аналіз ІЧ-спектрів та спектрів, що одержані за допомогою методу КД сироваткових альбумінів обох класів досліджуваних представників показав, що у формуванні конформаційної структу-

ри поліпептидного ланцюга альбумінів важлива роль належить не тільки β -складчатій структурі та α -спіральним ділянкам, які утворюють стійку α -конформацію, але і невпорядкованим ділянкам молекул цих протеїнів, доля яких є значною. Було виявлено, що у вторинній структурі СА досліджуваних представників класів плазунів та птахів існує певний перерозподіл, в залежності від виду тварин, між вмістом β -складчатої структури, α -спіральними ділянками та невпорядкованими ділянками молекул цих протеїнів.

Ключові слова: вторинна структура, сироватковий альбумін, ІЧ-спектроскопія, круговий дихроїзм, представники класів плазунів та птахів.

PECULIARITIES OF SECONDARY STRUCTURE OF SERUM ALBUMIN OF SOME REPRESENTATIVES OF THE ANIMAL KINGDOM

G. V. Pekhimenko¹, T. M. Kuchmerovska²

¹Vernadsky Taurian National University, Simferopol, Ukraine;

²Palladin Institute of Biochemistry National Academy of Science of Ukraine, Kyiv; e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

Summary

Methods of infrared (IR) spectroscopy and circular dichroism (CD) are suitable techniques for detection of proteins structural changes. These methods were used for determining peculiarities of the secondary structure of serum albumins in some representatives of two classes of reptiles: Horsfield's tortoise (*Testudo horsfieldi*), water snake (*Natrix tessellata*) and grass snake (*Natrix natrix*) and birds: domestic goose (*Anser anser*), domestic chicken (*Gallus domesticus*), domestic duck (*Anas platyrhynchos*) and dove colored (*Columba livia*). An analysis of IR spectra and spectra obtained by the method of CD of serum albumins of both classes representatives revealed that β -folding structure and α -helical sections that form the α -conformation play an important role in conformational structure formation of polypeptide chain and also disordered sites of molecules of these proteins. It was observed that certain redistribution depending on animals species exists, in the formation of secondary structure of serum albumins of the investigated representatives of reptiles and birds classes between the content of β -folding structure, α -helical sections and disordered sites in molecules of these proteins.

Key words: secondary structure, serum albumin, infrared spectroscopy, circular dichroism, reptiles and birds classes representatives.

1. Nicholson J. P., Wolmarans M. R., Park G. R. // Br. J. Anaesth. – 2000. – **85**. – P. 599–610.
2. Curry S. // J. Biochem. – 2001. – **276**, N 25. – P. 22804–22809.
3. Norde W., Giacomelli C. E. // J. Biotechnol. – 2000. – **79**. – P. 259–268.
4. Kouoh F., Gressier B., Luycx M. et al. // Farmaco. – 1999. – **54**. – P. 695–699.
5. Wratten M. L., Sereni L., Tetta C. // Ren Fail. – 2001. – **23**. – P. 563–571.
6. Луйк А. И. Сывороточный альбумин и биотранспорт ядов. – М.: Медицина, 1984. – 224 с.
7. Уголев А. М. // Журн. эвол. биохим. и физиол. – 1989. – **25**, N 2. – С. 215–233.
8. He X. M., Carter D. C. // Nature. – 1992. – **358**. – P. 209–215.
9. Sugio S., Kashima A., Mochizuki S. et al. // Prot. Eng. – 1999. – **12**. – P. 439–446.
10. Curry S., Mandelkov H., Brick P., Franks N. // Nat. Struct. Biol. – 1998. – **5**. – P. 827–835.
11. Dennis M. S., Zhang M., Meng Y. G., Kadkhodayan M. et al. // J. Biol. Chem. – 2002. – **20**, N 277. – P. 35035–3543.
12. Liu Y., Xie M.-X., Jiang M., Wang Y.-D. // Spectrochim. Acta A. – 2005. – **61**. – P. 2245–2251.
13. Norde W., Giacomeli C. E. // J. Biotechnol. – 2000. – **79**. – P. 259–268.
14. Prat L. R., Pohorille A. // Chem. Rev. – 2002. – **102**. – P. 2671–2692.
15. Ажицкий Г. Ю., Багдасарьян С. Н. // Лаб. дело. – 1975. – N 12. – С. 712–714.
16. Laemmli U. K. // Nature. – 1970. – **227**. – P. 680–685.
17. Чиргадзе Ю. Н. // Итоги науки и техники. – М.: ВИНТИ, 1973. – С. 9–61.
18. Сироткин В. А., Соломонов Б. Н., Файзуллин Д. А., Федотов В. Д. // Журн. физ. химии. – 2002. – **76**. – С. 2255–2262.
19. Shaw R. A., Kotowich S., Leroux M., Mantsch H. H. // Ann Clin. Biochem. – 1998. – **35**. – P. 624–632.
20. Dodero V. I., Quirolo Z. B., Sequeira M. A. // Front Biosci. – 2011. – **1**, N 16. – P. 61–73.
21. Hsieh Y. H., Chou C. Y. // J. Biomed. Sci. – 2011. – **18**, N 4. – P. 1–9.
22. Chen J. H., Yong J. T., Mertinez N. M. // Biochemistry. – 1971. – **11**, N 22. – P. 4120–4131.
23. Пехименко Г. В. // Ученые записки Таврического национального университета

- им. В. И. Вернадского (Серия «Биология, химия»). – 2005. – **18**, N 3. – С. 118–123.
24. *Andrade J. D.* // *Thin Solid Films*. – 1987. – **152**. – P. 335–343.
25. *Roberts G. G.* // *Adv. Phys.* – 1985. – **34**. – P. 475–512.
26. *Schmelzera M., Burgharda M., Fischera C. M. et al.* // *Synthetic Metals*. – 1995. – **71**. – P. 2087–2088.
27. *Tansil N. C., Gao Z.* // *Nanotoday*. – 2006. – **1**, N 1. – P. 28–37.
28. *Vaseashta A., Dimova-Malinovska D.* // *Sci. Technol. Adv. Mater.* – 2006. – **6**. – P. 312–318.
29. *Kouoh F., Gressier B., Luycckx M. et al.* // *Farmaco*. – 1999. – **54**, N 10. – P. 695–699.

Получено 30.03.2011