

УДК 594.3:[577.151.643+577.152.34]

**В. А. Топтіков, В. М. Тоцький, Т. Г. Алексеева,
О. О. Ковтун**

**ОСОБЛИВОСТІ ПРОТЕЇНАЗНОЇ АКТИВНОСТІ У
ТРАВНОМУ ТРАКТІ РАПАНИ (*RAPANA VENOSA*) З
ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОЇ ЧАСТИНИ ЧОРНОГО МОРЯ**

Досліджували протеїназну активність в різних залозистих структурах травної системи рапани. Показано, що максимальна питома (на одиницю сирої маси тканини) протеолітична активність та найбільша різноманітність молекулярних форм ферменту представлені у слинних залозах, найменша активність — у гепатопанкреасі та Лейбленівській залозі. За допомогою специфічних інгібіторів встановлено, що протеолітична активність слинних залоз обумовлена головним чином металопротеїназами.

Ключові слова: *Rapana venosa*, травна система, протеолітична активність.

Черевonoгий молюск *Rapana venosa* (Vallenciennes) (Gastropoda: Muricidae, Rapaninae) — успішний вселенець, який за півстоліття спричинив істотні збитки аборигенній фауні Чорного моря, особливо таким важливим промисловим об'єктам, як устриці та мідії [30]. Поряд з іншими причинами, одним із чинників швидкого і масового розселення рапани в акваторії Чорного моря (і не тільки в цьому регіоні) є здатність цього молюска змінювати свої трофічні пріоритети в залежності від обставин [28]. Якщо на батьківщині (північно-східна частина Тихого океану) основним джерелом живлення рапани є устриці, то в новому ареалі, після знищення запасів устриць, рапана перейшла на споживання інших молюсків, зокрема таких двостулкових, як мідії та венеріди [5, 22]. Крім того, рапана може вживати в їжу крабів, жититися падаллю [21] і навіть виявляти канібалізм [22].

Дорослі особини рапани в північно-західній частині Чорного моря живляться головним чином мідіями (*Mytilus galloprovincialis* Lamark). Відомо, що вміст протеїнів у м'ясі мідій дорівнює в середньому 11,5% [19]. Тому, для ефективного перетравлювання їжі у рапани має бути адекватний набір протеолітичних ферментів. На сьогодні у фаховій літературі досить детально описано локалізацію основних хімічних сполук в тканинах молюска та визначено деякі загальні морфофізіологічні особливості функціонування різних органів і систем [3, 10, 15, 17, 18]. Однак більшість біохімічних ас-

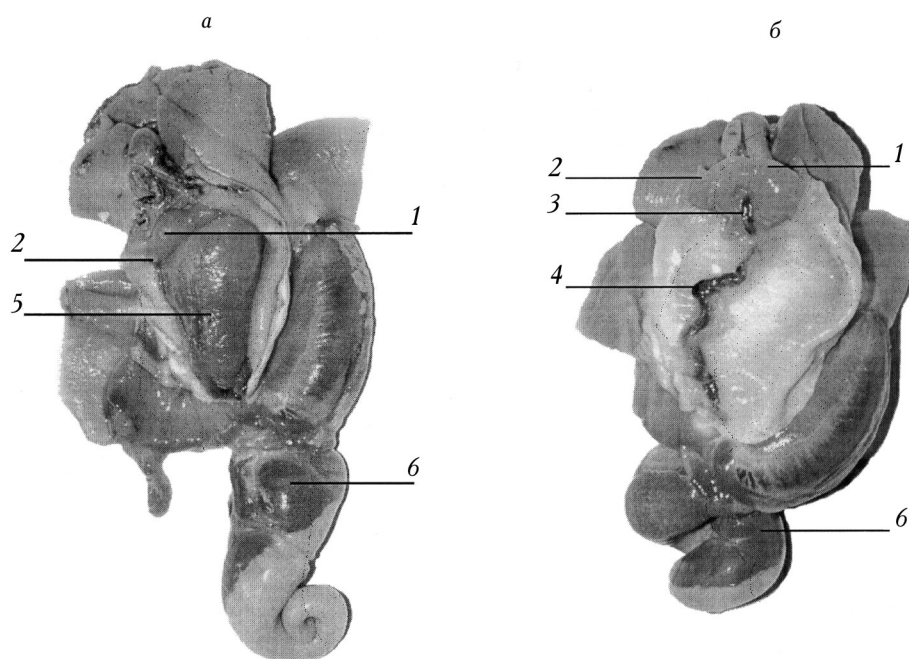
© В. А. Топтіков, В. М. Тоцький, Т. Г. Алексеева, О. О. Ковтун, 2014

пектів діяльності цих систем, у тому числі травної, практично не досліджені. Незважаючи на те, що до групи протеїназ відносяться ферменти, які виконують не тільки травну функцію, а й відіграють важливу роль у багатьох інших процесах (біогенез структур, фагоцитоз, поділ клітин, гуморальна, нейро- та імунорегуляція), протеолітичні ферменти молюсків вивчено недостатньо. В літературі не вдалося знайти детальної інформації щодо функціонування протеолітичної системи у рапани. Можна навести низку робіт, в яких показано наявність у молюсків практично всіх відомих груп протеолітичних ферментів, деякі їхні властивості, роль у життєдіяльності тварин, зокрема під впливом токсикантів, та відносну кількість різних груп протеїназ в організмі [6, 7, 9, 12]. Однак у них досліджувалися інші червононогі молюски та представники двостулкових, причому на рівні одного окремого органу або організму в цілому. У зв'язку з цим, а також враховуючи велику роль рапани в сучасній екології Чорного моря, метою роботи було з'ясувати поліморфізм та особливості експресії протеїназ у різних відділах травної системи рапани.

Матеріал і методика досліджень. Молюсків збирали вручну водолазним способом в районі Малого Фонтану в Одеській затоці у 50 м від берега на глибині 5—7 м. Збір здійснювали в серпні, вересні та на початку жовтня 2012 р., всього було п'ять незалежних зборів матеріалу. Зібраних молюсків одразу заморожували у морозильній камері до -28°C і в такому стані зберігали до аналізу.

В досліді використовували статевозрілих особин розміром (за висотою мушлі) від 65 до 85 мм. М'яке тіло молюска після легкого відтаювання обережно витягували з мушлі і препарували на поверхні холодогену, щоб запобігти суттєвому нагріванню матеріалу. Для аналізу відбирали такі частини травної системи (рис. 1): слинні (глоткові) залози, додаткові слинні залози, орган Лейблейна (грушоподібний орган) разом з ділянкою стравоходу, «малинову» залозу разом з ділянкою стравоходу, Лейбленівську (стравохідну) залозу, гепатопанкреас (травну залозу, печінку). Для аналізу використовували сукупний матеріал, який складався з органів 6—10 особин з рівною кількістю самців і самок.

Аналіз протеїназ здійснювали методом електрофорезу в поліакриламідному гелі, що дало можливість визначити ізозимний склад та активність окремих множинних форм досліджуваних ферментів. Тканини гомогенізували у буфері для екстракції такого складу: 0,05 М Трис- HCl (pH 6,8), 0,01% дитіотреїтол, 0,01% аскорбінова кислота, 0,01% натрієва сіль ЕДТА, 1% тритон X-100. Співвідношення тканина (мг) : буфер (мкл) становило 1 : 1. Проби розтирали безпосередньо у центрифужних пробірках, 3—5 разів піддавали заморожуванню-відтаюванню, після чого центрифугували на холоді ($+4^{\circ}\text{C}$) 20 хв при 10 000 g . До надосадової рідини додавали три об'єми охолодженого (-28°C) ацетону. Білковий осад отримували центрифугуванням за вищезазначених умов і обробляли протягом ночі охолодженим бутанолом при $+2$ — $+4^{\circ}\text{C}$. Після центрифугування матеріал висушували декілька діб при -28°C , а потім при кімнатній температурі 2—4 год. Осад розчиняли у співвідношенні 1 : 1 (мг тканини : мкл розчину) у буфері для екстракції з додаванням 15% цукрози і невеликої кількості бромфенолового си-



1. Ділянки травної системи рапани, використанні для аналізу: 1 — слинні залози; 2 — додаткові слинні залози; 3 — орган Лейбейна зі стравоходом; 4 — малинова залоза зі стравоходом; 5 — Лейблейнівська залоза; 6 — гепатопанкреас; а — розкрита мантийна порожнина, мантия відгорнута у боки; б — видалена Лейблейнівська залоза.

нього. Отриманий розчин використовували для електрофорезу. Оскільки в різних тканинах була неоднакова ферментативна активність, в гель вносили експериментально визначену кількість вихідного матеріалу, за якої можна було виявляти фермент в електрофореграмах мало активних проб. Кількість взятого для аналізу матеріалу була еквівалентною 10 мл (слинні залози), 15 (орган Лейбейна і малинова залоза) та 25 мг (Лейблейнівська залоза і гепатопанкреас) тканини.

Розподіл білків здійснювали в системі Девіса [23] у 10%-му поліакриламідному гелі. Здійснювали вертикальний нативний електрофорез при кімнатній температурі в пластинках гелю розміром 130×110×1 мм в апараті VE-4M (Хелікон, Росія). Спочатку електрофорез провадили при 15 мА і 110 В, поки фронт барвника не переміщувався від старту на відстань біля третини гелю, після чого силу та напругу струму збільшували до 30 мА і 260 В. Загальна тривалість електрофорезу складала 4—5 год.

Протеолітичну активність визначали за розщепленням желатину. Для цього при полімеризації у розчин мономерів поліакриламідну додавали желатин до кінцевої концентрації 0,1% [27]. По завершенні електрофорезу гелі інкубували у відповідному буфері при 26—28°C протягом 18 год. Оскільки для більшості відомих протеїназ йони кальцію є активаторами, у середовище додавали CaCl₂ до кінцевої концентрації 1 мМ. Після інкубації гелі фарбували розчином кумасі R 250 [11]. У місцях знаходження протеїназ спос-

терігалося послаблення або відсутність забарвлення: отримували так званий желатиназний профіль.

Для встановлення природи протеїназ використовували різні інгібітори, які додавали у буфер для інкубації гелів. За кислої реакції середовища (рН 4,6) застосовували такі інгібітори: проти металопротеїназ — ЕДТА (10 мМ) та 1,10-фенантролін (1 мМ), для впливу на гістидинові та аспарагінові протеїнази брали гуанідин-НСІ (6,3 мМ). Для дії на цистеїнові протеїнази використовували дві комбінації цистеїну і ЕДТА: стимулюючу (25 мМ цистеїну і 1 мМ ЕДТА) [29] і гальмуючу — з підвищеним вмістом агента, що зв'язує катіони (25 мМ цистеїну і 10 мМ ЕДТА). У слаболужному середовищі (рН 7,8) використовували інгібітори трипсиноподібних протеїназ: соєвий інгібітор трипсину Кунітца та овомукоїд у кінцевій концентрації 0,5 мг/мл.

Електрофореграми документували за допомогою скануючої приставки до комп'ютера і здійснювали кількісний аналіз електрофореграм за комп'ютерною програмою АнаИС (М. А. Поджарский, Д. Г. Рибалка, *podzharsky@ukr.net*). Ферментативну активність оцінювали за площею піків на денситограмах відповідних множинних форм і перераховували в умовних одиницях на 1 мг сирової тканини. Результати досліджень обробляли з використанням пакету програм *Microsoft Excel*. Перевірку розподілу отриманих даних на нормальність здійснювали за допомогою критерію Шапіро — Уїлка [1]. Достовірність відмінностей встановлювали відповідно до *t*-критерію Ст'юдента.

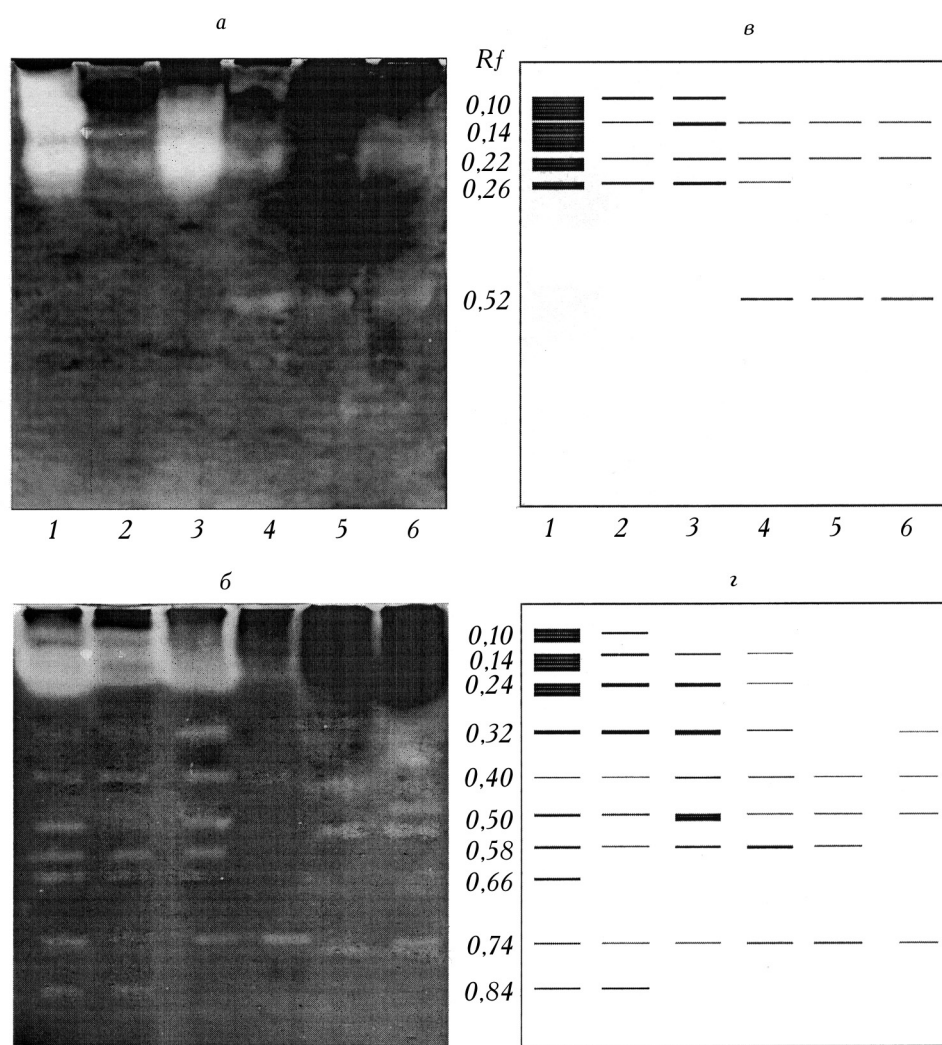
Результати досліджень та їх обговорення

Враховуючи майже повну відсутність інформації щодо протеолітичних ферментів рапани, аналіз протеїназ здійснювали при значеннях рН, за яких можна виявити найбільш розповсюджені ферменти, що гідролізують білки, тобто при рН 7,8 та 4,6. Типові електрофореграми представлено на рисунку 2.

Кількісна обробка показала, що найбільш високою питомою протеїназною активністю при обох значеннях рН середовища характеризувались слинні залози (рис. 3).

Наявність протеїназ у слинних залозах рапани раніше було показано гістохімічними методами [20], але порівняльний аналіз гідролітичної активності в різних залозистих структурах травного тракту рапани нами проведено вперше. Присутність максимальної протеїназної активності у передніх відділах травної системи рапани принципово відрізняє цих молюсків від хребетних, у яких процес травлення білків в основному відбувається у середніх ділянках травної системи. Зазначені особливості в розподілі протеолітичних ферментів у хижих червононогих молюсків зближує їх із павуками та деякими хижими комахами, які, окрім отрути, вводять у тіло жертви також набір гідролаз, що сприяє його розм'якшенню [2].

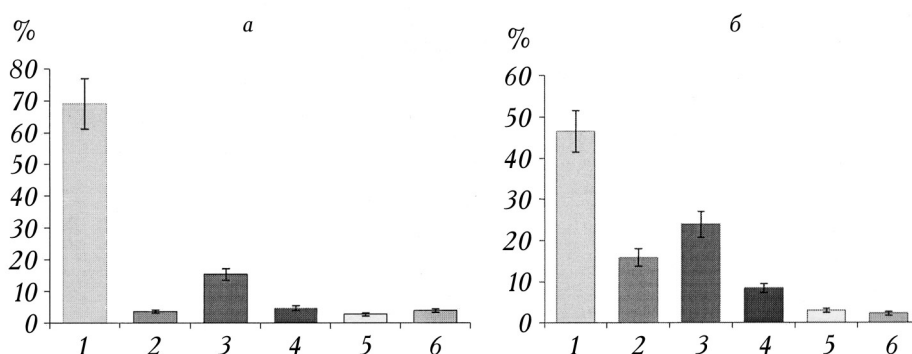
Окрім відмінностей по сумарній гідролітичній активності, досліджувані залозисті структури травної системи рапани відрізняються також якісним



2. Желатиназні профілі екстрактів досліджуваних ділянок травної системи рапани: *a, в* — при значенні рН 4,6; *б, г* — при рН 7,8; (*a, б* — електрофореграми; *в, г* — їхні схеми); 1 — слинні залози; 2 — додаткові слинні залози; 3 — орган Лейблейна зі стравоходом; 4 — малинова залоза зі стравоходом; 5 — Лейблейнівська залоза; 6 — гепатопанкреас; кількість внесеного розчину еквівалентно: 1, 2 — 10 мг; 3, 4 — 15 мг; 5, 6 — 25 мг тканини.

складом протеїназ і розподілом їхніх ізоформ в електрофоретичних спектрах. Отримані дані наведено у таблицях 1 і 2.

З наведених даних видно, що слинні залози відрізняються не лише високим рівнем протеїназної активності, а й найбільшою кількістю молекулярних форм цієї групи ферментів. Найнижча питома протеолітична активність і мінімальна кількість ізоформ виявляється у Лейблейнівській залозі та гепатопанкреасі. Відомо [4], що у двостулкових молюсків перетравлювання протеїнів здійснюється головним чином у гепатопанкреасі шляхом



3. Внесок (%) різних відділів у загальну протеїназну активність травної системи рапани при рН 4,6 (а) та при рН 7,8 (б) у розрахунку на 1 мг сирої маси тканини: 1 — слинні залози; 2 — додаткові слинні залози; 3 — орган Лейблея зі стравоходом; 4 — малинова залоза зі стравоходом; 5 — Лейблейнівська залоза; 6 — гепатопанкреас.

внутрішньоклітинного травлення за допомогою амебоїдних клітин. На підставі отриманих даних можна припустити, що у рапан із їх складно диференційованою травною системою гідроліз білків починається вже за межами та у передньої частини травного тракту в процесах позакишкового і порожнинного травлення. В наступних відділах переробка білків, вірогідно, відбувається як у результаті порожнинного травлення, так і за рахунок внутрішньоклітинного травлення.

Для з'ясування природи протеїназної активності було застосовано інгібіторний аналіз. Оскільки в слинних залозах протеїнази мають найбільшу питому активність і різноманітність та переважна частка протеолітичних ферментів рапани зосереджена в цих залозах, результати інгібіторного аналізу представлені саме для цих структур.

У слинних залозах в основному представлені металопротеїнази, оскільки 1,10-фенантролін та ЕДТА повністю пригнічують гідролітичну активність всіх ізоформ протеїназ (рис. 4). Гідрохлорид гуанідину не повністю, але достатньо сильно впливає на протеолітичну активність. При цьому він повністю гальмує більш рухливі форми ферменту (з відносною електрофоретичною рухливістю Rf вище 0,10) і частково (приблизно на 50%) пригнічує активність у малорухливій зоні (Rf до 0,10). Гуанідин є сильною основою та може конкурувати за водневі зв'язки з йоногенними радикалами амінокислот білків, внаслідок чого він здатен взаємодіяти з гістидином та карбоксильними групами дикарбонових амінокислот [13, 17]. На підставі виявленої інгібуючої дії гуанідину на протеолітичну активність можна припустити, що вказані амінокислоти у складі ферментів мають важливе значення для прояву ферментативної активності металопротеїназ слинних залоз рапани. Наявність гістидину, глютамінової або аспарагінової амінокислот в основному мотиві активного центру або поруч з ним показана для металопротеїназ різних організмів [14, 16]. Цистеїн не виявляв стимулюючої дії, отже досліджувані протеїнази, ймовірно, не належить до тілових протеолітичних ферментів. Повна відсутність впливу соєвого інгібітору трипсина та овому-

1. Показники спектрів молекулярних форм протеолітичних ферментів у різних відділах травної системи рапани, рН 4,6

Значення <i>Rf</i>	Відділи травної системи					
	слинні залози	додаткові слинні залози	орган Лейблейна	малинова залоза	Лейблейнівська залоза	гепатопанкреас
Активність						
0,08—0,10	20,45 ± 3,74	1,32 ± 0,28	2,62 ± 0,61	0,00	0,00	0,00
0,14—0,16	33,36 ± 5,42	0,39 ± 0,09	4,71 ± 1,01	1,15 ± 0,30	0,35 ± 0,11	0,37 ± 0,08
0,20—0,22	10,32 ± 1,97	0,47 ± 0,11	3,35 ± 0,72	1,10 ± 0,25	0,88 ± 0,18	1,01 ± 0,23
0,26—0,28	5,04 ± 1,20	1,58 ± 0,35	4,71 ± 1,07	0,90 ± 0,18	0,00	0,00
0,50—0,52	0,00	0,00	0,00	1,71 ± 0,40	1,61 ± 0,35	2,61 ± 0,56
Всього	69,17 ± 7,87	3,76 ± 0,54	15,39 ± 1,85	4,86 ± 0,69	2,84 ± 0,49	3,99 ± 0,54
Питома вага ізоформ						
0,08—0,10	29,57 ± 4,34	35,11 ± 5,29	17,08 ± 2,65	0,00	0,00	0,00
0,14—0,16	48,23 ± 7,41	10,37 ± 1,40	30,60 ± 4,93	23,66 ± 3,65	12,35 ± 1,78	9,27 ± 1,12
0,20—0,22	14,92 ± 2,46	12,50 ± 1,98	21,77 ± 3,12	22,63 ± 3,48	31,00 ± 4,57	25,31 ± 4,75
0,26—0,28	7,29 ± 1,01	42,02 ± 6,25	30,62 ± 4,61	18,52 ± 2,65	0,00	0,00
0,50—0,52	0,00	0,00	0,00	35,60 ± 5,19	56,69 ± 9,01	65,41 ± 9,62

Примітка. Тут і в табл. 2: *Rf* — відносна електрофоретична рухливість; активність наведена в умовних одиницях на 1 мг сирої маси, питома вага — у відсотках від загальної активності.

коїду свідчить про те, що виявлені в слинних залозах рапани ферменти не є трипсиноподібними протеїназами.

Як відомо, до групи металопротеїназ відносяться так звані матриксні металопротеїнази, які виконують головну роль у катаболізмі сполучнотканинного комплексу [16]. Основна біологічна функція матриксних металопротеїназ полягає у руйнуванні компонентів позаклітинного матриксу [24, 26]. Враховуючи зазначені функціональні особливості металопротеїназ, неважко зрозуміти роль їхньої високої активності саме в слинних залозах рапани. Така властивість секрету слинних залоз рапани забезпечує не тільки перева-

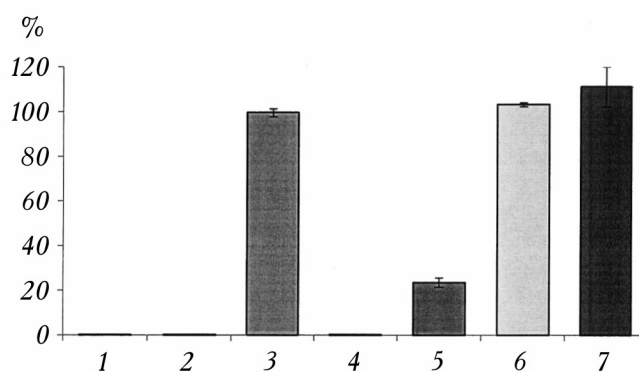
2. Показники спектрів молекулярних форм протеолітичних ферментів у різних відділах травної системи рапани, рН 7,8

Значення <i>Rf</i>	Відділи травної системи					
	Слинні залози	додаткові слинні залози	Орган Лейблейна	малинова залоза	Лейблейнівська залоза	гепатопанкреас
Активність						
0,08—0,10	9,58 ± 1,46	1,42 ± 0,20	0,00	0,00	0,00	0,00
0,14—0,16	14,39 ± 2,08	3,08 ± 0,43	2,19 ± 0,32	0,23 ± 0,06	0,00	0,00
0,24—0,26	9,48 ± 1,37	4,80 ± 0,69	4,10 ± 0,63	0,75 ± 0,17	0,00	0,00
0,32—0,34	3,60 ± 0,60	4,00 ± 0,52	6,41 ± 0,98	1,04 ± 0,24	0,00	0,55 ± 0,12
0,40—0,42	0,84 ± 0,11	0,37 ± 0,06	2,67 ± 0,41	1,44 ± 0,31	0,55 ± 0,13	0,45 ± 0,10
0,50—0,52	2,00 ± 0,30	0,53 ± 0,09	5,57 ± 0,91	0,47 ± 0,10	0,50 ± 0,12	0,56 ± 0,12
0,58—0,60	2,21 ± 0,38	0,64 ± 0,10	2,07 ± 0,33	3,25 ± 0,64	0,59 ± 0,13	0,00
0,66—0,68	2,57 ± 0,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,74—0,76	1,39 ± 0,19	0,82 ± 0,13	0,86 ± 0,13	1,25 ± 0,26	1,38 ± 0,26	0,87 ± 0,17
0,84—0,86	0,47 ± 0,08	0,45 ± 0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
Всього	46,54 ± 5,00	16,12 ± 2,12	23,88 ± 3,12	8,44 ± 1,09	3,02 ± 0,50	2,43 ± 0,46
Питома вага ізоформ						
0,08—0,10	20,59 ± 3,96	8,80 ± 1,50	0,00	0,00	0,00	0,00
0,14—0,16	30,90 ± 6,00	19,11 ± 3,63	9,18 ± 1,47	2,73 ± 0,38	0,00	0,00
0,24—0,26	20,39 ± 3,60	29,80 ± 4,05	17,18 ± 2,21	8,90 ± 1,22	0,00	0,00
0,32—0,34	7,73 ± 1,42	24,84 ± 3,75	26,85 ± 3,64	12,34 ± 1,83	0,00	22,63 ± 3,12
0,40—0,42	1,81 ± 0,34	2,32 ± 0,41	11,20 ± 1,55	17,08 ± 2,20	18,21 ± 2,13	18,52 ± 2,56
0,50—0,52	4,29 ± 0,78	3,28 ± 0,61	23,34 ± 3,61	5,58 ± 0,72	16,56 ± 2,12	23,05 ± 3,22

Продовження табл. 2

Значення <i>Rf</i>	Відділи травної системи					
	Слинні залози	Додаткові слинні залози	Орган Лейблейна	малинова залоза	Лейблейнівська залоза	гепатопанкреас
0,58—0,60	4,75 ± 0,93	3,98 ± 0,66	8,66 ± 1,11	38,55 ± 5,38	19,54 ± 2,97	0,00
0,66—0,68	5,52 ± 1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,74—0,76	2,29 ± 0,44	5,10 ± 0,93	3,60 ± 0,57	14,83 ± 2,18	45,70 ± 7,26	35,80 ± 5,17
0,84—0,86	1,01 ± 0,21	2,78 ± 0,61	0,00	0,00	0,00	0,00

рювання протеїнів у травній системі, але й шляхом деструкції міжклітинного матриксу сприяє розм'якшенню тіла жертви, що значно полегшує функціонування радулярного апарату хижого червоногого молюска. Ця особливість секреції, ймовірно, може слугувати однією з причин ненажерливості рапани. Так, в лабораторних умовах було показано, що рапана за добу може з'їсти кількість їжі, що складає від її власної маси від 0,8% (для крупних особин з довжиною раковини понад 101 мм) до 3,6% (для дрібніших особин розміром 60—100 мм) [25]. Здатність рапани до споживання великої кількості їжі було підтверджено і в польових дослідженнях [8]. Таким чином, слинні залози рапани секретують не лише слиз, що забезпечує формування харчової грудки, але і ферменти для переварювання їжі, протеїнази зокрема.



4. Вплив різних інгібіторів на прояв протеолітичної активності в слинних залозах травної системи рапани: 1 — 1,10-фенантролін; 2 — 10 мМ ЕДТА; 3 — 25 мМ цистеїну+1 мМ ЕДТА; 4 — 25 мМ цистеїну+10 мМ ЕДТА; 5 — 6,3 мМ гуанідину гідрохлориду; 6 — 0,5 мг/мл соєвого інгібітору трипсину; 7 — 0,5 мг/мл овомукоїду; показано залишкову активність у відсотках до контролю, прийнятого за 100%.

Висновки

Проведені дослідження показали, що у всіх залозистих структурах травної системи рапани наявна протеолітична активність. Однак вона розподілена нерівномірно. Найбільш високу питому активність (на одиницю сирої маси тканини) і більшу кількість молекулярних форм протеїназ виявлено в слинних залозах, найменший рівень питомої активності і меншу кількість ізоформ ферменту — в гепатопанкреасі та Лейблейнівській залозі. Інгібіторний аналіз показав, що протеолітична активність в слинних залозах рапани пов'язана в основному з металопро-теїназами. Можливо, що металопро-теїнази слинних залоз рапани не лише беруть участь у переварюванні білків, а й сприяють розм'якшенню тіла жертви, що полегшує роботу радулярного апарату хижака.

**

Вивчали розподіл протеїназної активності в різних залозистих структурах травної системи рапани. Показано, що максимальна питома (на одиницю маси тканини) протеолітична активність і найбільша різноманітність молекулярних форм ферменту виявляються в слинних залозах; у гепатопанкреасі і Лейблейновській залозі активність мінімальна. За допомогою інгібіторів встановлено, що протеолітична активність слинних залоз обумовлена в основному металопро-теїназами.

**

The distribution of proteinase activity in various glandular structures of the digestive system rapa whelks were investigated. It was shown that the maximum proteolytic activity and the greatest variety of molecular forms of the enzyme were in the salivary glands. Proteolytic activity was the minimal in hepatopancreas and Leybleynovskiy gland. The use of inhibitors was established that the proteolytic activity of the salivary glands caused mainly by metalloproteinases.

**

1. Атраментова Л.О., Утєвська О.М. Статистичні методи в біології. — Харків: Вид-во Харк. ун-ту, 2007. — 288 с.
2. Барнс Р., Кейлоу П., Олив П., Голдінг Д. Беспозвоночные. Новый обобщенный подход; Пер. с англ. — М.: Мир, 1992. — 583 с.
3. Гаевская А.В. Паразиты, болезни и вредители мидий (*Mytilus*, Mytilidae). II. Моллюски (Mollusca). — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. — 100 с.
4. Жизнь животных. В 7 т. Т. 2 / Под ред. Р. К. Пастернака. — 2-е изд., перераб. — М.: Просвещение, 1988. — 447 с.
5. Кантор Ю.И. Биологические и исторические тайны рапаны // Природа. — 2003. — № 5. — С. 32—34.
6. Канцеровва Н.П. Са²⁺-зависимые протеолитические ферменты некоторых водных беспозвоночных и рыб: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Петрозаводск, 2011. — 23 с.
7. Конин Д.Н. Изучение комплекса протеолитических ферментов при воздействии токсикантов различной химической структуры в печени живородки речной: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2011. — 21 с.

8. Куракин А.П., Говорин И.А. Интенсивность потребления мидий рапаной *Rapana venosa* в северо-западной части Черного моря // Гидробиол. журн. — 2011. — Т. 47, № 4. — С. 15—22.
9. Литвинова О.А. Разработка технологии ферментного препарата из моллюска дрейссена (*Dreissena polymorpha* Pollas): Автореф. дис. ... канд. техн. наук. — Калининград, 2009. — 26 с.
10. Михайлов В.В., Литвиненко Н.М. Особенности распределения и запасы рапаны — *Rapana thomassiana* возле Крымского побережья Керченского пролива: Тез. докл. междунар. семинара, Мурманск, 19—21 марта 2003 г. — Мурманск: ММБИ КНЦ РАН, 2003. — С. 54—56.
11. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). — М.: Наука, 1981. — 288 с.
12. Пивненко Т.Н. Сравнительные исследования панкреатических сериновых протеиназ гидробионтов Тихого океана: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. — Владивосток, 1998. — 41 с.
13. Резников В. А. Химия азотсодержащих органических соединений: Учеб. пособие. — Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 2006. — 130 с.
14. Ругакова Н.Л. Новая секретируемая металлоэндопептидаза *Bacillus intermedius*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук — Казань, 2010. — 24 с.
15. Саенко Е.М. Динамика биохимических показателей тканей рапаны (*Rapana thomassiana*) в различные периоды годового цикла // Вопр. рыболовства. — 2008. — Т. 9, № 4 (36). — С. 788—796.
16. Соловьева Н.И. Основные металлопротеиназы соединительно-тканного матрикса // Биоорганическая химия. — 1994. — Т. 20, № 2. — С. 143—152.
17. Сироткин В.А. Избранные главы к лекционному курсу «Биофизическая химия». — Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2011. — 51 с.
18. Стугеникина Е.И., Фроленко Л.Н. Характеристика и запас *Rapana thomassiana* в северо-восточной части Черного моря: Тез. докл. VI Всерос. конф. по промысл. беспозвоночным, Калининград (пос. Лесное), 3—6 сент. 2002 г. — М.: ВНИРО, 2002. — С. 177—188.
19. Химический состав пищевых продуктов. Кн. 2: Справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов / Под ред. И. М. Скурихина и М. Н. Волгарева. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Агропромиздат, 1987. — 360 с.
20. Чухчин В.Д. Функциональная морфология рапаны. — Киев: Наук. думка, 1970. — 138 с.
21. Чухчин В.Д. Экология брюхоногих моллюсков Черного моря. — Киев: Наук. думка, 1984. — 176 с.
22. Шагрин Н.В., Афанасова Т.А. Питание и распределение *Rapana venosa* (Vallenciennes, 1846) в акватории Опускского заповедника (Восточный Крым, Черное море) // Мор. екол. журн. — 2009. — Т. 8, № 2. — С. 24.
23. Davis B.I. Disc electrophoresis. 2. Method and application to human serum proteins // Ann. New York Acad. Sci. — 1964. — Vol. 121, N 2. — P. 404—427.

24. *Deryugina E.I., Quigley J.P.* Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2010. — Vol. 1803, N 1. — P. 103—120.
25. *International Council for the Exploration of the Sea.* Alien Species Alert: *Rapana Venosa* (veined whelk)/ Ed. by R. Mann, A. Occhipinti, J. M. Harding. — ICES Cooperative Research Report. — 2004. — N 264. — 14 p.
26. *Nagase H., Woessner J.* Matrix Metalloproteinases. // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274, N 31. — P. 21491—21494.
27. *Pena L.B., Tomaro M.L., Gallego S.M.* Effect of different metals on protease activity in sunflower cotyledons // *Electronic J. of Biotechnology.* — 2006. — Vol. 9, I. 3. — P. 258—262. <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol9/issue3/full/18/>
28. *Savini D., Occhipinti-Ambrogi A.* Consumption rates and prey preference of the invasive gastropod *Rapana venosa* in the Northern Adriatic Sea // *Helgol. Mar. Res.* — 2006. — Vol. 60. — P. 153—159.
29. *Sgardieri V.G., Gupte S.M., Kramer D.E., Whitaker J.R.* Ficus enzymes. I. Separation of the proteolytic enzymes of *Ficus carica* and *Ficus glabrata* latices // *J. Biol. Chem.* — 1964. — Vol. 239, N 7. — P. 2170—2177.
30. *Zolotarev V.* The Black Sea ecosystem changes related to the introduction of new mollusk species // *PSZNJ: Mar. Ecology.* — 1996. — Vol. 17 (1—3). — P. 227—236.