

Таблица 3
Сравнение волновых чисел отдельных пиков в ИК спектре комплекса и физической смеси β-ЦД и ликопина

Сравнение волновых чисел отдельных пиков в ИК спектре комплекса и физической смеси β-циклодекстрина и ликопина и различие между одиночными пиками		
Пики комплекса [см ⁻¹]	Пики физической смеси [см ⁻¹]	Сдвиг [см ⁻¹]
500	490	10
575	580	-5
700	690	10
750	745	5
820	830	-10
940	925	15
1000	1010	-10
1100	1110	-10
1150	1125	25
1250	1245	5
1300	1320	-20
1340	1350	-10
1375	1400	-25
1425	1425	/
1700	1700	/
1750	1750	/
2855	2825	30
2910	2900	10
3250	3250	/
3340	3330	10

данных (дополнение), построили дифференциальные расчетные спектры ВООП – волновое число для образцов комплексообразования β-ЦД : ликопин (рис.4). Интенсивная широкая полоса с максимумом поглощения 3600...3000 см⁻¹, смещенная в низкочастотную область, в сравнение с частотой свободных ОН-групп, свидетельствует об участии гидроксильных в теме водородных связей. Полосы в области

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мартынов А.В., Лисяк Ю.В. и др. Синтез, свойства и стабильность к действию амилазы ацильных производных β- циклодекстрина // Annals of Mechnicov Institute, №1, 2008.-с. 38-41.
 2. Абания В.А., Авакян З.Г., Мелкумян А.Г., и др. Сравнительная характеристика циклодекстриногликозилтрансфераз различных групп микроорганизмов. // Биохимия,-1992.-57, №3.-с.430-437.
 3. Абелан В.А., Дехтярев С.И., Африкан Э.Г. О некоторых новых свойствах термофильной циклодекстриногликозилтрансферазы Bacillus sp // Биохимия,-1991.-Т.56,№9.-с.1583-1590.
 4. Беликов В.Г., Компанцева Е.В., Гаврилин М.В., Умнова Э.Ф. Изучение возможности использования бета-циклодекстрина в производстве синафлаза // Биотехнология,-1991.№5.-с. 63-64.
 5. Клочков С.В., Компанцева Е.В., Бердник Е.Н., Ботезат-Белый Ю.К., Бабилов Ф.В. Исследование клатратообразования β- циклодекстрина с метапрогеролом // Хим.-фарм.журнал,-1991,№2.-с. 48-49.
 6. Негру І.Ф., Капрельянц Л.В. Ферментативний каталіз як основа для ефективної переробки відходів сокового виробництва // Вісник ДонДУЕТ. – Донецьк: ДонДУЕТ ім. М. Туган-Барановського, 2009. –№ 1(25). – С. 144 – 148.
 7. Clinton S. Lycopen: chemistry, biology and implications for human health and disease // Nutr. Rev. -1998. -№2. -р.35-41.
 8. Казыцина Л.А., Куллетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР – спектроскопии в органической химии. Учеб. пособие для вузов. М., «Высшая школа», 1971. 264 с. с илл.
- УДК 635.162:547.466.02

ЧЕРНО Н.К., д-р техн. наук, профессор, КРУСИР Г.В., д-р. техн. наук, доцент, СЕВАСТЬЯНОВА Е.В., канд. хим. наук, доцент, ТИРОН-ВОРОБЬЕВА Н.Б., м.н.с. ПНИЛ

Одесская национальная академия пищевых технологий

ЛИЗОЦИМ ARMORACIA RUSTICANA: АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ, ФОРМА МАКРОМОЛЕКУЛЫ

В статье приведена характеристика аминокислотного состава лизоцима хрена обыкновенного (*Armoracia rusticana*). Установлена его близость таковым лизоцимам растительного происхождения. Его молекулярная масса составляет 12,0 кДа. Согласно Фишеру, подобно другим лизоцимам растительного происхождения, лизоцим хрена обыкновенного является глобулярным и имеет сферическую форму.

Ключевые слова: лизоцим, аминокислотный состав, хрен обыкновенный (*Armoracia rusticana*), белковая глобула.

In article reduced characteristic of amino acid composition of horseradish (*Armoracia rusticana*). Determine, that this imminent similar

3400...3200 см⁻¹ показывают поглощение в спектре полиассоциатов, а в области 3000...2800 см⁻¹ характеризуют валентные колебания С–Н– групп. Колебания метиленовых групп антисимметричны и симметричны. Колебания метиленовой группы ликопина =C(CH₃)₂ показывает перегруппировку электронной плотности по двойным связям. Полосы в области 1100...700 см⁻¹ характеризуют малоинтенсивное колебание углеродного скелета, что свидетельствует о незначительном выходе комплекса β-ЦД с ликопином. Полосы в области 700...500 см⁻¹ показывают деформационные колебания углеродного скелета, что свидетельствует о процессе образования целевого комплекса.

Сравнение ИК спектров (таблица 3), показало что волновые числа пиков, различаются в двух спектрах, указывая на отличие между физической смесью β-циклодекстрина с ликопином и комплексом включения.

Исследования показали, что в препаратах комплекса с соотношением компонентов 1:3 и 1:4 ликопин включается в полость β-ЦД менее чем на 50%, тогда как в комплексе 1:1 и 1:2 около 80% ликопина находится в виде стабильного комплекса включения.

Таким образом, результаты исследований подтверждают образование комплекса между β-ЦД и ликопином. Методика комплексообразования может использоваться для получения комплекса β-ЦД с ликопином, а сам комплекс может быть рекомендован к использованию при производстве функциональных продуктов питания.

Поступила 02. 2010

lysozymes of plant origin. Molecular weight of horseradish lysozyme is 12, 0 kDa. According to Fisher, horseradish lysozyme is a globular protein and has spherical form similar lysozymes of plant origin.

Keywords: lysozyme, amino acid composition, horseradish (*Armoracia rusticana*), protein globule.

Одним из белков-ферментов является лизоцим, разрушающий клеточную стенку многих бактерий путем гидролиза в них пептидогликана. Его название, предложенное комиссией по ферментам Международно-

го биохимического объединения, – мурамидаза, отражает механизм действия фермента на клеточную оболочку, содержащую мурамовую кислоту [1].

Лизоцим – филогенетически древнейший защитный фермент, встречающийся у всех форм живой материи – от бактериофагов до человека.

Различают пять основных типов этого фермента: с-тип – лизоцим белка куриного яйца, g-тип – лизоцим белка гусиного яйца, h- и b-типы принадлежат лизоцимам, полученным из растительных источников, i-тип – лизоцим беспозвоночных (моллюски, насекомые).

Лизоцим, полученный из различных источников, заметно отличается по своим свойствам. Поэтому говорят не о лизоциме, а о лизоцимах, подразумевая под последними обширную группу ферментов, основная функция которых заключается в расщеплении β -(1→4), а также, возможно, β -(1→2) гликозидных связей. Его субстратом у бактерий является сополимер N-ацетилглюкозамин-N-ацетилмурамовая кислота, а также олигосахариды с той же чередующейся структурой. Известно, что лизоцим обладает определенной хитиназной активностью, то есть способностью гидролизовать (1→4)-N-гликозидные связи между остатками ацетилглюкозамина в хитине. Имеются сведения о наличии у него и эстеразной активности [2].

Лизоцим способен лизировать клетки различных бактерий, микрококков, стафилококков, кишечной палочки, сальмонелл, шигелл, актиномицетов, некоторых видов дрожжей и грибов.

В настоящее время известно около 50 представителей данного класса ферментов. Лизоцимы различного происхождения отличаются по структуре, физико-химическим свойствам, интенсивности ферментативного действия. При этом все они обладают биологической активностью одного характера [3].

Лизоцим защищает организм посредством нейтрализации и выведения из него повреждающих компонентов иммунного ответа и токсических метаболитов с помощью таких механизмов [4-9]:

- лизис и дезинтеграция иммунных комплексов;
- участие в антирадикальной защите – способность регулировать и поддерживать на оптимальном уровне концентрацию свободных радикалов и скорость образования гидропероксидов;
- антигистаминный эффект (гистамин – физиологически активное вещество из группы биогенных аминов, участвующее в регуляции различных метаболических процессов, в то же время являющееся одним из медиаторов аллергических реакций);
- мембраностабилизирующие свойства;
- антиацидотические свойства.

В настоящее время лизоцим широко используется как компонент продуктов лечебного питания, обогащенных естественными защитными факторами [10-11].

Лизоцим показан при всех состояниях, сопровождающихся снижением эндогенного лизоцима, в том числе при респираторных, гастроэнтерологических, аллергических, аутоиммунных заболеваниях, при трансплантации органов, лучевой терапии и т.д. [12].

Лучше других изучены свойства лизоцима, полученного из яичного белка, считающегося своего рода эталоном [3].

Первичная структура яичного лизоцима представлена одинарной цепью, состоящей из 129 аминокислотных остатков, где N-концевой аминокислотой является лизин, а С-концевой – лейцин. Дисульфидные мостики образуют четыре поперечные связи. Он имеет $\alpha + \beta$ структуру, содержащую от 5 до 7 α -спиралей и три вытянутых антипараллельных β -складки. Его глобула имеет глубокую щель на одной стороне, образующую активный центр. Внутренняя часть белковой глобулы содержит неполярные гидрофобные остатки. Щель также частично выстлана гидрофобными группировками, которые обеспечивают стабильность молекул фермента. Нагревание нерастворенного кристаллического лизоцима в течение 1 часа при 160 °С не влияет на его активность, нагревание до 200 °С снижает за 20 минут его активность на 95%. Неденатурированный лизоцим устойчив к действию трипсина; пепсин, однако его гидролизует с заметной потерей активности. Денатурированный лизоцим восстанавливает ферментативную активность при инкубации в растворе 0,1 мМ ЭДТА и 0,1 М триацетата при рН 8,0 [13].

Лизоцим молока [14] имеет молекулярную массу примерно 15000 Да, его первичная структура представлена 123 аминокислотными остатками. По оптимальности рН, устойчивости к нагреванию в кислой среде, ультрафиолетовому спектру он сходен с лизоцимом белка куриного яйца, но удельная активность его в 2-3 раза выше. Фермент менее термостабилен, имеет более высокий заряд при электрофорезе, более чувствителен к некоторым антибиотикам, нежели лизоцим белка куриного яйца.

Лизоцим обнаружен во многих растениях, в частности, в репе [15], брюкве, хрене, редьке, капусте [16, 20], он найден в цветах примулы, соке дынного дерева, в некоторых видах фикусов, у папайи и фиговом дереве [17, 18].

Сведения о лизоцимах растительного происхождения крайне ограничены. Наиболее изученным растительным лизоцимом является лизоцим папайи [19]. Его выделили из млечного сока растения в кристаллическом состоянии в виде комплексов с солями ртути. Лизоцим папайи по способности воздействовать на стенки клеток *M. lysodeikticus* менее активен, чем мурамидаза куриного яйца и, напротив, значительно превосходит ее по величине хитиназной активности (примерно в 400 раз выше). Ферментативные свойства этого энзима полностью исчезают в случае восстановления всех четырех S-S связей. Конформационные изменения структуры фермента сводятся при этом к полной утрате спиральной структуры молекулы.

Лизоцим репы обладает в 12 раз большей хитиназной активностью, чем лизоцим белка яйца курицы. Основными продуктами гидролиза хитопентаозы являются хитобиоза и хитотриоза. N-ацетилглюкозамин при рН 6,2 ингибирует активность этого фермента.

Как и лизоцим куриного яйца, он гидролизует β -(1→4) гликозидные связи в стенках клеток *M. Lyso-deikticus*, отличаясь, однако, от эталонного фермента

по молекулярной массе, электрофоретической подвижностью и оптимумом pH. Ферментативная активность составляет около 50 % от активности яичного лизоцима.

Лизоцим фигового дерева близок по своим свойствам лизоциму папайи. Его молекулярная масса составляет 29000 Да, он имеет пептидную цепь с остатком глицина на N-конце и остатком изолейцина на C-конце. Оптимум pH 4,5, хитин и тетра-N-ацетилглюкозамин он расщепляет в большей степени, чем лизоцим яичного белка. Его аминокислотный состав существенно отличается от состава лизоцима папайи.

Ранее нами было показано, что одним из значимых источников лизоцима растительного происхождения является хрен обыкновенный, который относят к семейству крестоцветных (Cruciferae (Brassicaceae)), роду – *Armoracia rusticana*. По активности он сопоставим с лизоцимом белка куриного яйца (субстрат-суспензия ацетонового порошка *M. lysodeikticus* в 1/15 М натрий-фосфатном буфере, pH 6,2) [21]. Использование *Armoracia rusticana* в качестве источника лизоцима в перспективе может позволить расширить арсенал средств, восстанавливающих лизоцимный баланс в организме.

Цель данной работы – характеристика аминокислотного состава и формы макромолекулы лизоцима *Armoracia rusticana*.

Лизоцим выделяли из соковой части корнеплодов *Armoracia rusticana* методом специфической фермент-субстратной хроматографии на глюкохитине. Использовался хитин фирмы «БиоХит», (г. Москва), который дезаминировался с целью удаления его ионообменных групп, что в ряде случаев приводит к извлечению вместе с основным продуктом посторонних белковых веществ. Для дезаминирования к раствору 10,35 г (0,15 М) нитрита натрия в 300 см³ дистиллированной воды при 2-4 °С добавлялась 12,7 см³ концентрированная хлороводородная кислота (0,15 М). В образовавшийся раствор (pH 2-3) вносился 100 см³ (23,9 г) хитина, перемешивался при 2-4 °С до исчезновения вспенивания (выделение азота). Полученный глюкохитин промывался дистиллированной водой и высушивался при 80-100 °С. Сок корнеплодов хрена обыкновенного, содержащий лизоцим, вносили в колонку с глюкохитином, десорбцию фермента проводили 3 %-ной уксусной кислотой. Степень очистки фермента составила 13,0 (по удельной лизоцимной активности, ед./мг), выход – 37% (по суммарной лизоцимной активности, ед.) [22]. Молекулярную массу (Mг) и гомогенность препарата лизоцима определяли методом электрофореза в 15 %-ном полиакриламидном геле. Аминокислотный состав определяли на аминокислотном анализаторе Hitachi 835.

В табл.1 приведены данные по характеристике аминокислотного состава лизоцима *Armoracia rusticana* в виде числа остатков каждой аминокислоты в макромолекуле фермента. Они получены расчетным

путем, исходя из его молекулярной массы (12,0 кДа) и содержания каждой аминокислоты в гидролизате. Для сравнения в табл.1 приведены аналогичные показатели для лизоцима куриного яйца и некоторых лизоцимов растительного происхождения, рассчитанные на основании соответствующих данных, найденных в использованной литературе [16-18].

Анализ приведенных результатов показывает, что сумма остатков основных аминокислот: лизина, гистидина и аргинина в макромолекулах лизоцимов фигового дерева, папайи, куриного яйца и *Armoracia rusticana* составляет 19,8; 25,5; 18,4; 6,8, соответственно. По отношению к общему количеству аминокислотных остатков в молекуле эти величины соответст-

Таблица 1
Сравнительная характеристика аминокислотного состава лизоцимов различного происхождения

№ п/п	Аминокислота	Лизоцимы/ Мг			
		Фиговое дерево/ 29,0 кДа*	Папайя/ 28,0 кДа**	Белок куриного яйца/ 14,9 кДа***	Хрен обыкновенный/ 12,0 кДа
Число аминокислотных остатков в макромолекуле					
1	Триптофан	8,6	7,3	6,1	3,7
2	Лизин	10,9	9,8	6,2	4,3
3	Гистидин	2,9	2,5	1,0	0,9
4	Аргинин	6,0	13,2	11,2	1,6
5	Аспарагиновая кислота	31,9	21,3	17,9	11,6
6	Треонин	13,6	12,6	6,7	5,5
7	Серин	19,3	14,3	10,2	8,6
8	Глутаминовая кислота	13,0	10,6	3,4	5,4
9	Пролин	13,8	17,3	1,7	7,4
10	Глицин	33,0	21,8	10,6	18,5
11	Аланин	27,9	16,8	10,2	11,4
12	Цистин	6,2	3,9	5,0	4,4
13	Валин	11,8	6,4	6,0	7,5
14	Метионин	2,9	3,9	2,3	2,4
15	Изолейцин	19,8	10,6	6,1	7,7
16	Лейцин	22,9	11,5	9,6	6,0
17	Тирозин	16,9	13,2	2,9	5,9
18	Фенилаланин	6,7	10,9	2,1	2,7
Сумма		268,0	208,0	119,0	115,5

* [18];

** [17];

*** [16]

вуют: для лизоцима фигового дерева – 7,4 %; лизоцима папайи – 12,2 %; лизоцима куриного яйца – 15,5 %; лизоцима *Armoracia rusticana* – около 6 % и показывают, что в этом отношении лизоцим хрена наиболее близок лизоциму фигового дерева. Количество остатков аминокислот кислого характера – аспарагиновой и глутаминовой, в макромолекуле лизоцима фигового дерева – 44,1 (16,5 %), папайи – 31,9 (15,3 %), куриного яйца – 21,3 (17,9 %), *Armoracia rusticana* – 17,0 (14,7 %). По их содержанию исследуемый лизоцим в большей степени соответствует лизоциму папайи.

Таким образом, аминокислотный состав лизоцима *Armoracia rusticana* близок таковому других лизоцимов растительного происхождения. Содержание остатков триптофана в лизоциме *Armoracia rusticana* – 3,2 % (в лизоциме фигового дерева оно составляет 3,2 %, лизоциме папайи – 3,5 %, лизоциме куриного яйца – 5,1 %).

Характеристика белковых глобул растительных лизоцимов

Показатели	Лизоцимы		
	Хрен обыкновенный	Папайя	Фиговое дерево
Содержание гидрофильных остатков, $V_{ГФЛ}$	49,46	49,67	47,54
Содержание гидрофобных остатков, $V_{ГФ}$	50,54	49,34	51,02
Соотношение $V_{ГФЛ}/V_{ГФ}$ (b_s)	0,98	1,01	0,93
Радиус глобулы, r_0 , мкм	20,31	19,85	21,13
Радиус ядра глобулы, r , мкм	15,31	14,85	16,13
Объем глобулы, мкм ³	0,035	0,033	0,039
Показатель заполнения ядра глобулы гидрофильными остатками	0,98	1,01	0,93

Установлено [3], что остатки триптофана играют важную роль в структуре лизоцима белка куриного яйца, причем 3 из них (остатки 62, 63 и 108) участвуют в связывании субстрата. Высокая стабильность лизоцима куриного яйца обеспечивается наличием четырех дисульфидных мостиков. В лизоциме *Atmogacia rusticana* количество остатков цистина составляет 3,8 %, а в лизоцимах фигового дерева, папайи и куриного яйца соответственно — 2,3 %, 1,9 % и 4,2 %. Это дает основания предполагать, что стабильность исследуемого фермента будет превышать таковую других лизоцимов растительного происхождения. Пространственную конформацию белковой молекулы определяли согласно Фишеру на основании электронно-конформационных взаимодействий, учитывая количество гидрофобных (ГФ) и гидрофильных (ГФЛ) фрагментов аминокислотных остатков, присутствующих в молекуле полимера (табл. 2). Известно, что гидрофобные взаимодействия играют определяющую роль в формировании структуры белков. Степень гидрофобности белковой молекулы рассчитывают исходя из отношения суммарного количества остатков гидрофильных аминокислот в данном белке к суммарному количеству остатков гидрофобных [23], что в дальнейшем позволяет оценить радиусы белковой глобулы и ее ядра, объем глобулы и степень заполнения ядра гидрофильными остатками. Эти данные, согласно Фишеру, дают основания для прогнозирования формы белковой макромолекулы, которая может быть сферической, эллипсоидной, фибриллярной, либо представлять собой некий агрегат [24].

Значения соответствующих показателей, рассчитанных для лизоцима *Atmogacia rusticana* и других растительных лизоцимов, представленные в табл. 2, свидетельствуют об их значительной аналогии у всех рассмотренных белков.

Последующая интерпретация полученных данных с помощью теоретической кривой (кривая Фишера) позволила сделать вывод о том, что все упомянутые лизоцимы представляют собой компактные образования — сферы, с гидрофобным ядром и гидрофильной поверхностью.

Таким образом, аминокислотный состав лизоцима *Atmogacia rusticana* близок таковым лизоцимов растительного происхождения. Его молекулярная масса составляет 12,0 кДа. Согласно Фишеру, подобно другим лизоцимам растительного происхождения, он является глобулярным и имеет сферическую форму.

Поступила 02. 2010

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бернхард С. В. Структура і функції ферментів. – М.: Мир, 1968.
2. Резенгарт В. И. Ферменты – двигатели жизни. – М.: Наука, 1997. – 155с.
3. Бухарин О.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О.В. Бухарин, Н.В. Васильев. – Т.: Изд-во Томского университета, 1974. – 183с.
4. Дорофейчук В.Г. Механизмы защитной функции лизоцима, фундаментальное и прикладное значение//Нижегор. мед. журнал.- 1996. -№2. –С.9-13
5. Маянский А.Н. Клинические аспекты фагоцитоза / А.Н. Маянский, О.И. Пикуза. – Казань, 1993. – С.191
6. Цыганова Т.А., Креникова О.И., Якушева Л.В. и др. Влияние факторов местного иммунитета полости рта на формирование микробного носительства у детей // 3-й Конгресс педиатров России. Экологические и гигиенические проблемы педиатрии. – 1998. – С.166-167
7. Sekretorishes Immunoglobulin A (SI_gA) im Speichel von Neugeborenen / Baade K., Hein J., Seifarth M. // Kinderarzt. Prax. – 1988. - №8. – S.381-387
8. Humoral immunity non-immunologic deferece mechanisms at mucosal surfaces / Brown W., Kloppel T. // Immunology and Immunopathology of the liver and Gastrointestinal tract. – New York - Tokyo. – 1990. – P.74-75
9. Dorofeichook V.G., Shez S.A. Lysozyme theoretical and practical aspects // American – Russian medical society. – The second international conference of Russian speaking medical doctors, stomatologists and biologists. New York City, USA. – 1998. – P.45
10. Караванская Н.А. // Гигиена и санитария. – 1968. - №10. – С.24-28
11. Пат. WO2007/002145A2 USA IPC A61K38/47 Lysozyme-based food stuff / S. Ferrari. - №PST/US2006/024070; заявл. 21.06.2005; опубл. 21.06.2006
12. Б.Г. Либман, К.А. Каграманова, З.В. Ермольева // Советская медицина. -1971. - №11. – С.34
13. Тарун Е.И. Особенности термической инактивации лизоцима в растворах / Е.И. Тарун, А.Н. Еремин, Д.И. Метелица // Биофизика. – 1986. - №2. – С.195-199
14. Jolles P., Jolles J. // Nature. – 1961. – V.192. – P.1187
15. The turnip lysozyme / Bernier, Leemputten E. V., Horisberger M., Bush D. A., Jolles P. // Febs lett. - 1971. – V.14 – P.100-104
16. А. с.178771 СССР, МПК С 12к. Способ получения ферментных препаратов лизоцимов из содержащего их сырья / И. А. Черкасов, Н. А. Кравченко (СССР). – №943666/28-13; Заявл. 17.11.65; Опубл. 19.11.66, Бюл. №4. – 2с.: ил.
17. Лахтин В.М. Очистка и характеристика множественных форм лизоцима латекса папайи / Лахтин В.М., Костанова Е.А., Арбатский Н.П. // Прикладная биохимия и микробиология. – 1995.-№2. – С.247-254
18. Isolation and characterization of fig lysozyme / Glazer A.N., Barel A.O., Howard G.B., Brown D.M. // The Journal of Biol. Chem. – 1969. – V.244 (13) – P.3583-3589
19. Fleming Alexander. // Proc. Roy. Soc. Biol. – 1922. – V.93. – P.306
20. Improved method of lysozyme separation via enzyme-substrate chromatography / Cherkasov I. A., Kravchenko N. A. // Biochemistry. – 1969. – V.34. – P.1089
21. Пат. 2294373. Россия МПК C12Q 1/02 Способ определения лизоцимной активности биологических объектов /Г. Н. Соловых. - №2005103265/13; Заявл. 20.07.06; Опубл. 27.02.07, Бюл. №6
22. Черно Н.К. Виділення та дослідження лізоциму *Atmogacia rusticana* методом фермент-субстратної хроматографії / Черно Н.К., Крусір Г.В., Тірон Н.Б., Севастьянова О.В. // Фармаком. – 2008.-№3. – С.51-55
23. Шукин С.И. Основы биофизики – М.: МГТУ, 1998
24. Волькенштейн М.В. Молекулярная биофизика.- Москва: Изд. «Наука», 1975 – 617с.