

CZU: 577.112:633.1

СНИЖЕНИЕ АЛЛЕРГЕННОСТИ БЕЛКОВ НЕОЧИЩЕННЫХ ЭКСТРАКТОВ СЕМЯН АРАХИСА И СОИ МЕТОДОМ ОГРАНИЧЕННОГО ПРОТЕОЛИЗА

Алла КЕРДИВАРЭ, Андрей ШУТОВ

Молдавский государственный университет

Proteoliza limitată cu papaină a extractelor proteinelor nepurificate din semințele de arahide și soia duce la scindarea regiunii C-terminale a domeniilor N-terminale ale globulinelor 11S, precum și a regiunii N-terminale a globulinei 7S din arahide. În aceste domenii au fost identificați epitopii IgE, care determină în mare măsură alergenicitatea globulinelor 11S și 7S din arahide și soia. Rezultatele obținute indică posibilitatea fundamentală de reducere a alergenității proteinelor din arahide și soia atunci când se utilizează ca substraturi nu doar preparatele purificate de globuline, așa cum s-a stabilit anterior, dar și extractele de proteine totale din semințe.

Cuvinte-cheie: globulinele de rezervă din semințe, alergeni, epitopii IgE, arahide, soia.

LIMITED PROTEOLYSIS OF PROTEINS FROM NON-PURIFIED EXTRACTS OF PEANUT AND SOYBEAN SEEDS REDUCES THEIR ALLERGENICITY

Limited papain proteolysis of unpurified protein extracts from peanut and soybean seeds leads to cleavage off of the C-terminal region of the N-terminal domains of 11S globulins, as well as the N-terminal region of peanut 7S globulin. In these regions, IgE epitopes have been identified, largely determining the allergenicity of 11S and 7S peanut and soybean globulins. The results indicate the fundamental possibility of reducing the allergenicity of peanut and soybean proteins when using not only purified globulin preparations as substrates, as established earlier, but also total protein extracts of seeds.

Keywords: seed storage globulins, allergens, IgE epitopes, peanut, soybean.

Введение

Семена являются важнейшим источником белка в пищевом рационе человека. Большая часть белка в семенах принадлежит запасным 11S (легумины) и 7S (вицилины) глобулинам [1]. Некоторые запасные глобулины, как природные компоненты пищи, могут привести к развитию повышенной аллергической чувствительности, завершающейся формированием аллерген-специфичных иммуноглобулинов E (IgE) антител. По данным, приведенным в SDAP (Structural Database of Allergenic Proteins) [2], аллергенами являются как 11S, так и 7S глобулины. В первую очередь, это запасные глобулины из семян арахиса [3] и сои [2], широко используемых в пище либо напрямую, либо в составе разнообразных пищевых продуктов.

Наиболее привлекательным способом снижения аллергенности запасных глобулинов, используемых в качестве добавок к промышленным пищевым продуктам, может быть ограниченный протеолиз [4], закономерности которого определяются специфичностью не столько первичной, сколько третичной структуры субстрата [5].

В основе третичной структуры N- и C-концевых доменов запасных 11S и 7S глобулинов лежит β -баррель из антипараллельных β -стрендов, соединенный с группой α -спиралей (рис. 1). C-концевой домен 11S глобулинов (β -цепь) нечувствителен к ограниченному протеолизу. Напротив, N-концевой домен (α -цепь) содержит протяженные гидрофильные вставки, вынесенные на поверхность гексамерной структуры 11S глобулинов и поэтому отличающиеся повышенной чувствительностью к протеолитической атаке [5].

Аллергенность 11S глобулинов арахиса Ara h3 и сои Gly m G1 обусловлена присутствием в аминокислотных последовательностях N-концевых доменов (α -цепей) IgE эпитопов. В обоих случаях эти эпитопы локализованы в C-концевой области α -цепей (рис. 1). Согласно экспериментальным данным, вся эта область, где идентифицированы эпитопы 1 и 2 (соя, Gly m G1 [10]) и эпитопы 2, 3 и 4 (арахис, Ara h 3 [6]), разрушается при начальной атаке папаином [11, 12] или трипсином [8]. Таким образом, ограниченный протеолиз приводит либо к существенному снижению (арахис), либо к полному исчезновению (соя, Gly m G1) аллергенности 11S глобулинов.

В аминокислотной последовательности 7S глобулина арахиса Ara h1, отличающегося наибольшим уровнем аллергенности среди всех других изученных в этом отношении запасных глобулинов семян, идентифицированы IgE эпитопы 1-21 [2, 3]. Эпитопы 1-3 удаляются посттрансляционно, а оставшиеся 18 IgE эпитопов локализованы как в N-, так и в C-концевом доменах [7]. Ara h1 является 7S глобулином конвизицилинового типа, в первичную структуру которого входит протяженное N-концевое удлинение, не образующее электронной плотности в кристаллической структуре белка (рис. 1 Б). В аминокислотной последовательности N-концевого домена зрелого Ara h1 идентифицированы IgE эпитопы 4-13, шесть из которых принадлежат N-концевому удлинению, остальные же четыре – С-концевой области последовательности за пределами β-барреля (рис. 1). Согласно экспериментальным данным [9], ограниченный протеолиз 7S глобулина арахиса папаином начинается с отщепления и разрушения N-концевого удлинения, где в интактном белке идентифицированы IgE эпитопы 4-9, и завершается расщеплением в центральной области петли между α-спиралью h3 и β-стрендом J', где идентифицирован IgE эпитоп 13 (рис. 1). Таким образом, ограниченный протеолиз приводит к существенному (на 40%) снижению аллергенности 7S глобулина арахиса.

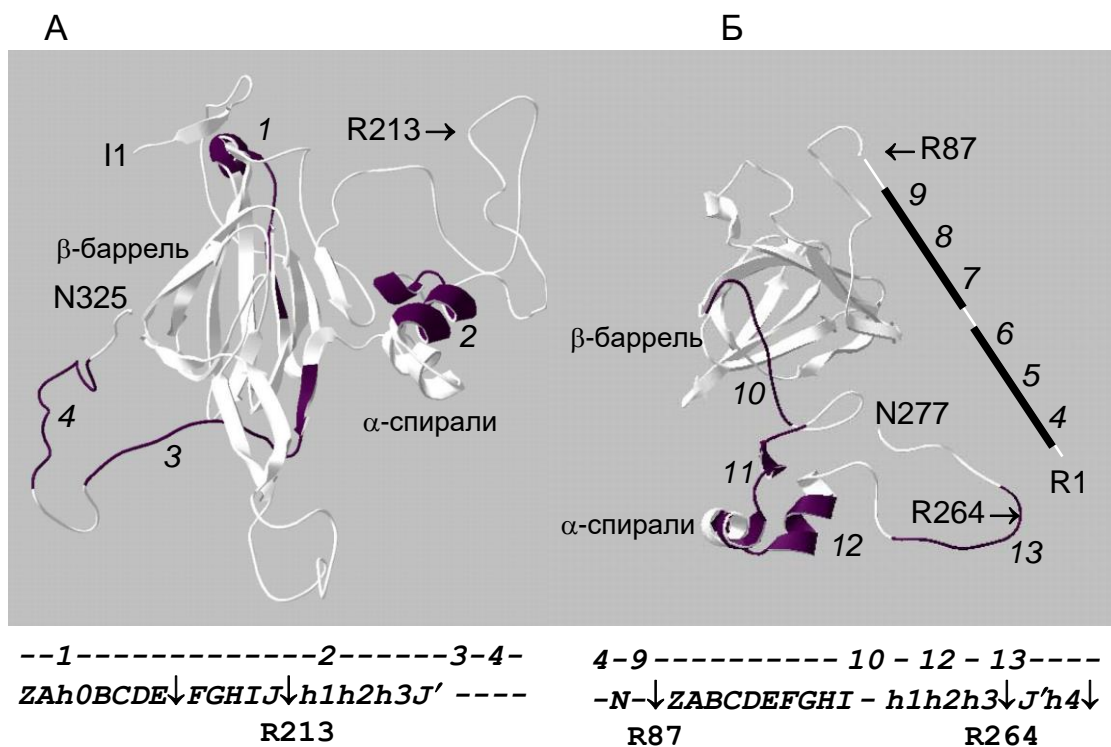


Рис.1. Ленточные диаграммы третичных структур N-концевых доменов запасных 11S (А) и 7S (Б) глобулинов семян арахиса. Темные участки диаграмм соответствуют IgE эпитопам, идентифицированным в аминокислотных последовательностях 11S глобулина [6] и зрелого 7S глобулина [7]. N-концевое удлинение 7S глобулина (остатки R1-S86), где идентифицированы IgE эпитопы 4-9, не образует электронной плотности в кристаллах белка. Стрелками показаны остатки Арг в положении Р1 пептидных связей, расщепление которых приводит к существенному снижению аллергенности 11S и 7S глобулинов арахиса [8, 9]. В нижней части рисунка показаны вторичные структуры (β-стренды Z-J' и α-спирали h0, h1-h3, h4), а также все экспериментально установленные точки расщепления полипептидных цепей (↓) и положение IgE эпитопов.

Приведенные выше экспериментальные данные о снижении уровня аллергенности 11S и 7S глобулинов арахиса и сои методом ограниченного протеолиза получены при использовании в качестве субстратов очищенных препаратов запасных глобулинов. В какой мере этот метод пригоден к использованию в пищевой промышленности? Для ответа на этот вопрос в настоящей работе проведены исследования закономерностей ограниченного протеолиза суммы 11S и 7S глобулинов арахиса и сои, присутствующих в неочищенных белковых экстрактах семян.

Материалы и методы

Для получения суммы белков семян арахиса *Arachis hypogaea* и сои *Glycine max*, обезжиренную муку экстрагировали буфером А (0,05 М трис-НСl, рН 8,0, содержащий 0,02% NaN_3 , 1 мМ ЭДТА и доведенный NaCl до ионной силы 0,5). Очищенные препараты 11S и 7S глобулинов арахиса и сои получали, в основном, как описано ранее [8,9,11,12], с использованием изоэлектрического осаждения, фракционирования сульфатом аммония и гидрофобной хроматографии на фенил-сефарозе CL-4B (Pharmacia Biotech).

Белки суммарного экстракта и очищенные препараты 11S и 7S глобулинов арахиса гидролизовали папаином (Sigma Life Science) при 30°C в соотношении фермент/субстрат 1:500 в буфере А.

Гидролиз папаином белков суммарного экстракта и очищенного препарата 11S глобулина сои проводили при 30°C, как описано ранее [11], в соотношении фермент/субстрат 1:100 в буфере В (0,2 М ацетат Na, рН 5,6, содержащий 0,02% NaN_3 , 1 мМ ЭДТА и доведенный NaCl до ионной силы 0,5). В обоих случаях реакцию останавливали добавлением трихлоруксусной кислоты до конечной концентрации 5%.

Остаточный белок в гидролизатах исследовали SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле белка, диссоциированного додецилсульфатом натрия) в 15%-ном геле, буферная система Лэммли [13]. Использовали маркеры молекулярной массы белков Bio-Rad (USA). Электрофореграммы сканировали (ImageScanner III, GE Healthcare) и анализировали с использованием программы Phoretix 1D Gel Analysis v.5.10.

При идентификации вероятных точек расщепления последовательностей 11S и 7S глобулинов учитывались: а) первичная субстратная специфичность папаина – остатки Arg, Lys, Leu и Gly в положении P1 при отсутствии остатка Val в положении P1' [14]; б) состав полипептидных фрагментов и их кажущиеся молекулярные массы по данным SDS-PAGE.

Моделирование областей в структуре запасных глобулинов арахиса, не образующих электронной плотности в белковых кристаллах, проводили с помощью программы SWISS-Model [15], применяя в качестве шаблонов кристаллические структуры 11S и 7S глобулинов арахиса pdb|3c3v и pdb|3s7e, соответственно.

Результаты и их обсуждение

11S и 7S глобулины арахиса. При электрофорезе в присутствии 2-меркаптоэтанола белков неочищенных экстрактов из семян арахиса обнаруживается зона 7S глобулина и два типа зон 11S глобулина: зоны α -цепей и зона совпадающих по подвижности β -цепей. Здесь следует упомянуть о том, что 11S глобулины синтезируются единой полипептидной цепью, которая посттрансляционно расщепляется с образованием α -цепей (N-концевых доменов) и β -цепей (C-концевых доменов). На электрофореграмме присутствует ряд минорных зон, соответствующих незапасным белкам (рис. 2 А).

В ходе протеолиза 7S глобулина появляется высокомолекулярный фрагмент 1, образующийся в результате отщепления (и последующего разрушения до низкомолекулярных фрагментов, не обнаруживаемых электрофорезом [9]) N-концевого удлинения, что характерно для начального ограниченного протеолиза 7S глобулинов конвизицинового типа [5]. Молекулярная масса β -цепей 11S глобулина арахиса остается неизменной, а α -цепи расщепляются с образованием фрагментов K1-K3 и N1-N3 (рис.2 А).

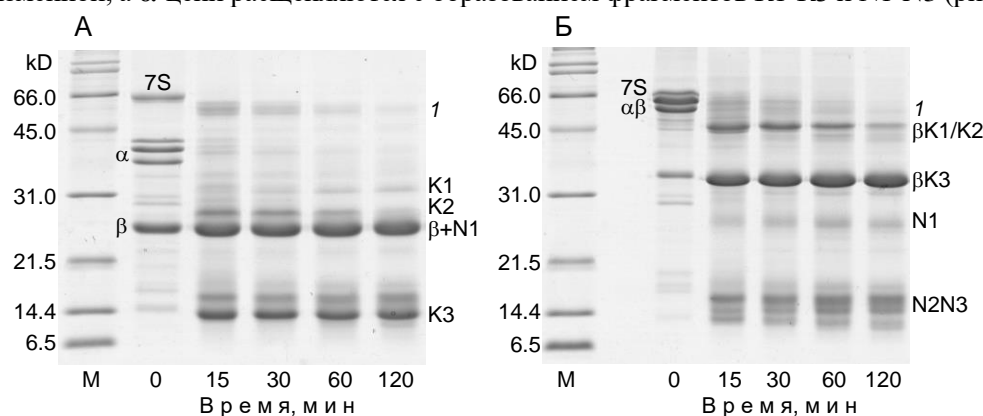


Рис.2. Электрофорез в присутствии (А) и в отсутствие (Б) 2-меркаптоэтанола продуктов протеолиза папаином белков неочищенных экстрактов из семян арахиса.

В структуре 11S глобулинов α - и β -цепи соединены дисульфидной связью [1]. Поэтому дополнительная информация о ходе протеолиза 11S глобулина арахиса может быть получена при сопоставлении результатов электрофореза в присутствии и в отсутствие 2-меркаптоэтанола (соответственно рис.2 А и Б). Так, в отсутствие 2-меркаптоэтанола начальные фрагменты K1/K2 и конечный фрагмент K3 соединены дисульфидной связью с β -цепями и образуют высокомолекулярные зоны β K1/K2 и затем β K3 (рис.2 Б). Кроме того, в отсутствие 2-меркаптоэтанола обнаруживается фрагмент N1, совпадающий по подвижности с β -цепями (рис. 2 А, Б). Наконец, поведение фрагментов N2 и N3 (как и фрагмента N1) не зависит от присутствия или отсутствия 2-меркаптоэтанола. Таким образом, фрагменты N1, N2 и N3 удерживаются в недиссоциированной молекуле 11S глобулина арахиса, претерпевшего ограниченный протеолиз, за счет нековалентных взаимодействий. Описанные результаты электрофореза в присутствии и в отсутствие 2-меркаптоэтанола типичны для 11S глобулинов семян других растений [5].

Более достоверная информация о закономерностях ограниченного протеолиза 11S и 7S глобулинов, присутствующих в неочищенных экстрактах семян арахиса, может быть получена при одновременном электрофоретическом анализе продуктов протеолиза белков этих экстрактов и очищенных препаратов 11S и 7S глобулинов (рис.3).

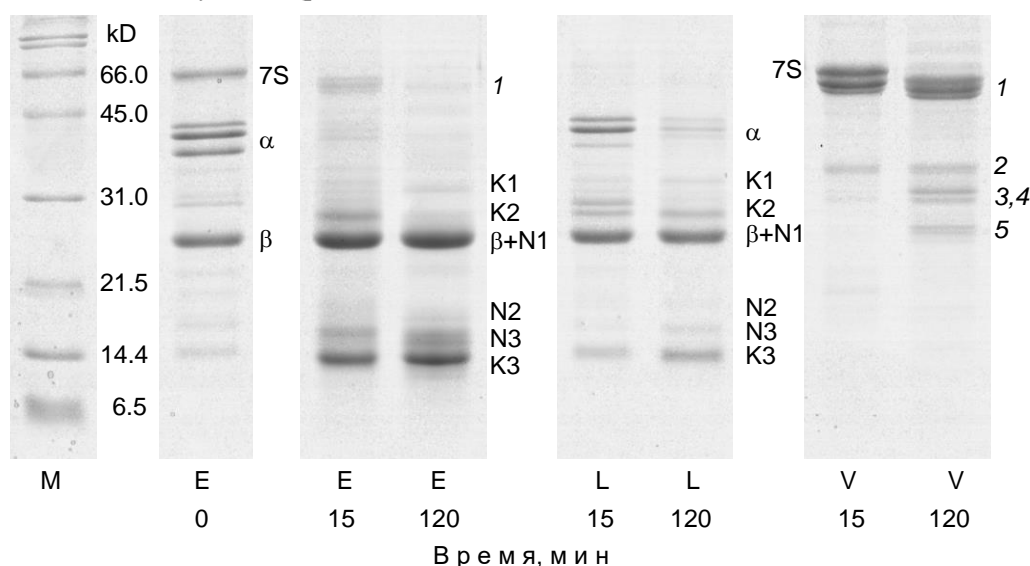


Рис.3. Электрофорез в присутствии 2-меркаптоэтанола продуктов протеолиза папаином белков неочищенных экстрактов семян арахиса (Е) и очищенных препаратов 11S (L) и 7S (V) глобулинов.

Каких-либо существенных различий между закономерностями протеолиза 11S глобулина в суммарных белковых экстрактах и в его очищенном препарате не обнаружено. В обоих случаях процесс начинается с последовательного С-концевого укорачивания α -цепей с образованием фрагментов K1 и K2, соединенных дисульфидной связью с β -цепями [12]. Уже на этом этапе ограниченного протеолиза, завершающемся расщеплением пептидной связи R213-Q214 (рис.1, 4), происходит отщепление и разрушение до низкомолекулярных пептидов, не обнаруживаемых электрофорезом, С-концевой области α -цепей, где в нативном белке идентифицированы IgE эпитопы 2, 3 и 4 [12]. Последующий ограниченный протеолиз (точечное расщепление в области петли между β -страндами E и F, рис.1), обнаруживаемый по появлению фрагмента K3 и фрагментов N1-N3 (соответственно N- и С-концевые половины β -барреля) не изменяет остаточный уровень аллергенности 11S глобулина арахиса, обусловленный присутствием IgE эпитопа 1 (рис.1).

В соответствии с результатами электрофореза, показанными на рис. 3, фрагменты 2-5, обнаруживаемые при гидролизе папаином очищенного препарата 7S глобулина, содержатся в минорных количествах, и поэтому их присутствие среди продуктов протеолиза белков неочищенных экстрактов недостоверно. Соответственно, недостоверно показанное на рис.4 расщепление при протеолизе белков неочищенных экстрактов пептидной связи в области эпитопа 10 7S глобулина. Тем не менее,

результаты электрофореза, приведенные на рис.2 и 3, однозначно свидетельствуют об отщеплении при начальном гидролизе папаином белков неочищенных экстрактов N-концевого удлинения, содержащего IgE эпитопы 1-6 (рис.4). Однако возможности частичного снижения аллергенности 7S глобулина арахиса методом ограниченного протеолиза могут быть менее благоприятными, чем это установлено для 11S глобулина.

Действительно, уже после 120 минут реакции фрагменты 7S глобулина среди продуктов протеолиза белков неочищенных экстрактов практически не обнаруживаются. Возможно, в этих условиях происходит, в отличие от 11S глобулина, глубокое полное расщепление молекул 7S глобулина по кооперативному (one-by-one [16]) механизму, детально описанному в ряде работ [17, 18]. Справедливость этого предположения подтверждается результатами исследования кинетики протеолиза папаином 7S глобулина сои [19]. Таким образом, возможности использования метода ограниченного протеолиза для снижения уровня аллергенности 7S глобулина в составе белков неочищенных экстрактов семян арахиса ограничены, поскольку они сопряжены с существенной количественной потерей белка.

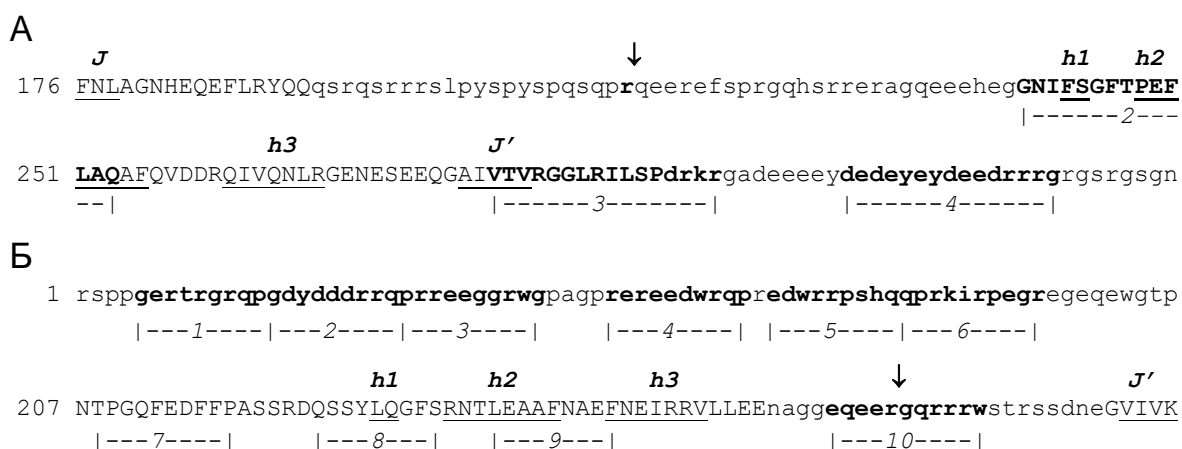


Рис.4. Области последовательностей N-концевых доменов запасных 11S и 7S глобулинов арахиса, где идентифицированы IgE эпитопы (жирным шрифтом выделены IgE эпитопы, удаляемые при ограниченном протеолизе). Строчными буквами показаны участки аминокислотных последовательностей, не образующих электронной плотности в кристаллах белка. А – 11S глобулин, pdb|3c3v; Б – 7S глобулин, pdb|3s7e. Стрелки соответствуют вероятным точкам расщепления [9, 12].

11S глобулин сои. В семенах сои присутствуют как 11S, так и 7S глобулины. Сведения об аллергенности субъединиц 7S глобулина сои отсутствуют.

Гексамерные молекулы 11S глобулина сои образуются в результате случайного сочетания пяти субъединиц двух типов: тип I, субъединицы G1 (A1aB1b), G2 (A2B1a) и G3 (A1bB1a); тип B, субъединицы G4 (A5A4B3) и G5 (A3B4) [20]. В зрелой молекуле 11S глобулина сои субъединица G4 состоит из трех полипептидов: α-цепи, посттрансляционно расщепленной на полипептиды A5 и A4 (соответственно N- и C-концевые половинки β-барреля) и β-цепи.

Экспериментально установлена аллергенность субъединицы Gly m G1, обусловленная присутствием в C-концевой части α-цепей IgE эпитопов 1 и 2 [10] (рис.5).

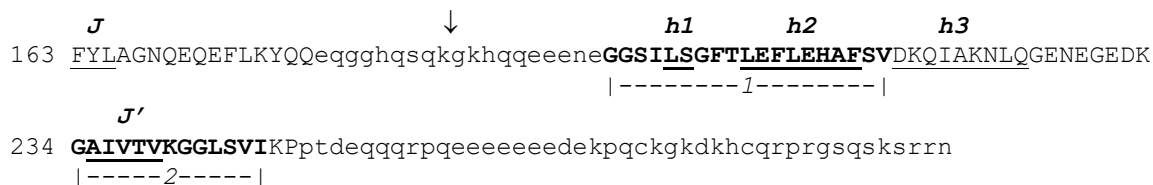


Рис.5. Область аминокислотной последовательности α-цепи субъединицы Gly m G1 (A1aB1b) 11S глобулина сои, где идентифицированы IgE эпитопы 1 и 2 [10]. Строчными буквами показаны участки последовательности, не образующих электронной плотности в кристаллах белка. Стрелка соответствует экспериментально установленной точке расщепления петли между β-стрендом J и α-спиралями [11].

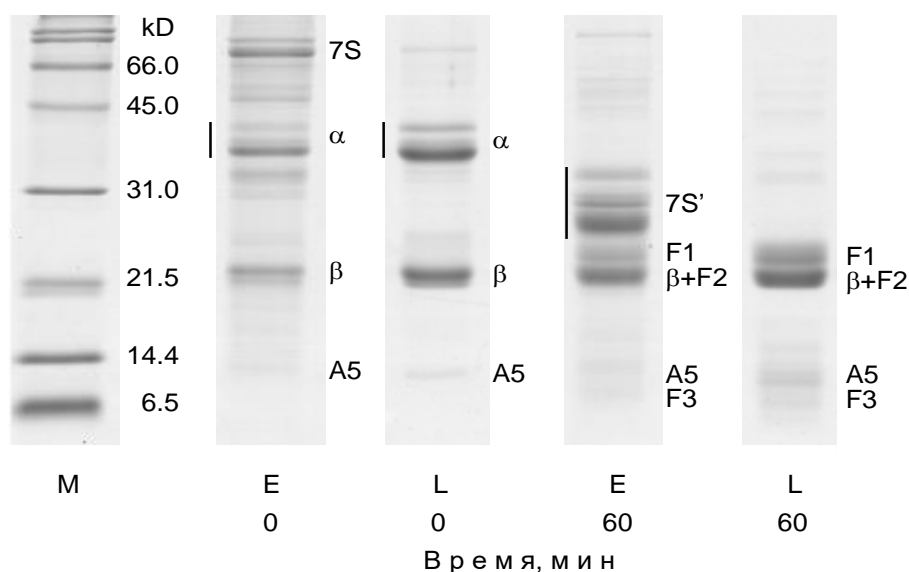


Рис.6. Электрофорез в присутствии 2-меркаптоэтанола продуктов протеолиза папаином белков неочищенного экстракта из семян сои (E) и очищенного препарата 11S глобулина (L). 7S и 7S' – соответственно 7S глобулин и высокомолекулярные продукты его протеолиза.

α – N-концевые домены (α -цепи) субъединиц G1-G3 и G5 11S глобулина;

A5 – N-концевая половина β -барреля (A5) α -цепи субъединицы G4 (A5A4B3).

F1 и F2 – продукты ограниченного протеолиза α -цепей субъединиц G1-G3 и G5.

Часть зоны фрагмента F2 соответствует C-концевой половине β -барреля (A4) α -цепи субъединицы G4 (A5A4B3). F3 – N-концевая половина β -барреля (A5) α -цепи субъединицы G4 (A5A4B3).

Ограниченный протеолиз папаином 11S глобулина сои начинается с отщепления наиболее чувствительных к протеолитической атаке C-концевых участков α -цепей за пределами β -стренда J' [21] и завершается расщеплением петли между β -стрендом J и α -спиралями [11] (рис. 5). Это приводит к образованию фрагментов F1 и F2, соответствующих области β -барреля субъединиц G1-G3 и G5. Часть зоны фрагмента F2 соответствует C-концевой половине β -барреля (A4) α -цепи субъединицы G4 (A5A4B3). Наконец, фрагмент F3 соответствует интактной N-концевой половине β -барреля (A5) α -цепи субъединицы G4 (A5A4B3) [11]. Описанные результаты согласуются с приведенной на рис.6 картиной электрофореза суммарного экстракта белков семян сои и очищенного препарата 11S глобулина.

В ходе ограниченного протеолиза отщепляемый C-концевой участок, включая область α -спиралей $h1-h3$ и β -стренда J' (рис. 5), разрушается до низкомолекулярных пептидов, не обнаруживаемых электрофорезом [11]. В аминокислотной последовательности этого участка в субъединице G1 (A2B1a) идентифицированы эпитопы 1 и 2 [10]. Таким образом, ограниченный протеолиз папаином приводит к полной ликвидации аллергенности этой субъединицы 11S глобулина сои.

Выводы

Результаты настоящей работы показывают идентичность закономерностей ограниченного протеолиза при использовании в качестве субстратов неочищенных белковых экстрактов и очищенных препаратов 11S глобулинов арахиса и сои. В обоих случаях наблюдается отщепление и разрушение до низкомолекулярных пептидов C-концевой области α -цепей, где в интактных субъединицах Ara h3 арахиса и Gly m G1 сои присутствуют IgE эпитопы. Поскольку первичные и третичные структуры субъединиц 11S глобулинов весьма консервативны, можно предполагать, что ограниченный протеолиз папаином приведет к снижению аллергенности многих других субъединиц, входящих в состав гексамерных структур 11S глобулинов арахиса и сои. Перспективы снижения аллергенности 7S глобулина в неочищенных белковых экстрактах семян арахиса методом ограниченного протеолиза менее благоприятны, поскольку сопряжены с существенной количественной потерей белка.

Литература:

- DUNWELL, J.M. Structure, function, and evolution of vicilin and legumin seed storage proteins. In: A. Steinbüchel, Y. Doi, eds. *Biotechnology of biopolymers - from synthesis to patents*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2005, p.967-997.
- IVANCIUK, O., SCHEIN, C.H., BRAUN, W. SDAP: database and computational tools for allergenic proteins. In: *Nucleic Acid Research*, 2003, vol.31, p.359-362 (doi: 10.1093/nar/gkg010).
- PELE, M. Peanut allergens. In: *Romanian Biothechnological Letters*, 2010, vol.15, p.5204-5212.
- CHERDIVARĂ, A.M. Limited proteolysis as a means to reduce the allergenicity of seed storage globulins (review). In: *Agricultural Biology*, 2018, v.53, p.475-484 (doi: 10.15389/agrobiology.2018.3.475eng).
- SHUTOV, A.D., WILSON, K.A. Seed storage globulins: their descent from bacterial ancestors and mechanisms of degradation. In: S.D. Milford, ed. *Globulins: Biochemistry, Production and Role in Immunity*. Nova Science Publishers: New York, 2014, p.71-104.
- RABJOHN, P., HELM, E.M., STANLEY, J.S. et al. Molecular cloning and epitope analysis of the peanut allergen Ara h 3. In: *Journal of Clinical Investigation*, 1999, vol.103, p.535-542 (doi: 10.1172/JCI5349).
- SHIN, D.S., COMPADRE, C.M., MALEKI, S.J. et al. Biochemical and structural analysis of the IgE binding sites on Ara h 1, an abundant and highly allergenic peanut protein. In: *Journal of Biological Chemistry*, 1998, v.273, p. 13753-13759 (doi: 10.1074/jbc.273.22.13753).
- CHERDIVARĂ, A., RUDAKOVA, A., RUDAKOV, S., ȘUTOV, A. Alergenul Ara h3, globulina de rezervă din semințele de arahide. 2. Proteoliza limitată cu tripsină. În: *Studia Universitatis Moldaviae, seria Științe reale și ale naturii*, 2017, 1(101), p.41-45.
- CHERDIVARĂ, A., RUDAKOVA, A., RUDAKOV, S., SHUTOV, A. Proteoliza limitată a alergenului Ara h1, globulina de rezervă 7S din semințele de arahide. În: *Studia Universitatis Moldaviae, seria Științe reale și ale naturii*, 2016, 6(96), p.10-15.
- BEARDSLEE, T.A., ZEECE, M.G., SARATH, G., MARKWELL, J. P. Soybean glycinin G1 acidic chain shares IgE epitopes with peanut allergen Ara h 3. In: *International Archives of Allergy and Immunology*, 2000, vol.123, p.299-307.
- SHUTOV, A., RUDAKOVA, A., RUDAKOV, S., KAKHOVSKAYA, I. et al. Limited proteolysis regulates massive degradation of glycinin, storage 11S globulin from soybean seeds: an in vitro model. In: *Journal of Plant Physiology*, 2012, vol.169, p.1227-1233 (doi: 10.1016/j.jplph.2012.06.004).
- CHERDIVARĂ, A., RUDAKOVA, A., RUDAKOV, S., ȘUTOV, A. Alergenul Ara h3, globulina de rezervă din semințele de arahide. 1. Proteoliza limitată cu papaină. În: *Studia Universitatis Moldaviae, seria Științe reale și ale naturii*, 2017, 1(101), p.37-40.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. In: *Nature*, 1970, vol.227, p.680-685.
- SCHECHTER, I., BERGER, A. On the size of the active site in proteases. I. Papain. In: *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1967, vol.27, p.157-162.
- ARNOLD, K., BORDOLI, L., KOPP, J., SCHWEDE, T. The SWISS-MODEL Workspace: A web-based environment for protein structure homology modelling. In: *Bioinformatics* 2006, vol.22, p.195-201.
- RUPLEY, J.A. Susceptibility to attack by proteolytic enzymes. In: *Methods Enzymology*, 1967, vol.11, p.905-917.
- SHUTOV, A.D., PINEDA, J., SENYUK, V.I. et al. Action of trypsin on soybean glycinin. Mixed-type proteolysis and its kinetics; molecular mass of glycinin-T. In: *European Journal of Biochemistry*, 1991, vol.199, p.539-543.
- VAINTRAUB, I.A. Kinetics of co-operative proteolysis. In: *Nahrung*, 1998, vol.42, p.59-60.
- SHUTOV, A.D., RUDAKOVA, A.S., RUDAKOV, S.V. et al. Degradation of β -conglycinin β -homotrimer by papain: independent occurrence of limited and extensive proteolyses, In: *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 2013, vol.77, p.2082-2086.
- NIELSEN, N.C., NAM, Y-W. (1999) Soybean globulins. In: P.R. Shewry, R. Casey, eds. *Seed proteins*. The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, p.285-313.
- SHUTOV, A.D., KAKHOVSKAYA, I.A., BASTRYGINA, A.S. et al. Limited proteolysis of β -conglycinin and glycinin, the 7S and 11S storage globulins from soybean (*Glycine max* (L.) Merr.): structural and evolutionary implications, In: *European Journal of Biochemistry*, 1996, vol.241, p.221-228.

Примечание. Исследование выполнялось в рамках Институционального проекта 15.817.05.02F.

Date despre autori:

Андрей ШУТОВ, доктор хабилитат, профессор, главный научный сотрудник НИЛ Биохимия растений.

ORCID: 0000-0002-1154-1107

Алла КЕРДИВАРЭ, научный сотрудник НИЛ Биохимия растений.

ORCID: 0000-0003-1276-4959

Prezentat la 20.05.2019