УΔК 577.112.083

Ил. 2. Библ. 10.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЯСНОГО СЫРЬЯ МЕТОДОМ ПЕПТИДНОГО ФИНГЕРПРИНТА

Вострикова Н. Л., канд. техн. наук, **Чернуха И. М.,** чл.-корр. РАН, **Куликовский А. В.,** канд. техн. наук ФГБНУ «ВНИИМП им. В. М. Горбатова»

Ключевые слова: говядина, свинина, конина, верблюжатина, протеомика, мышечные белки, пептидный фингерпринт, 2D-электрофорез, MALDI-TOF масс-спектрометрия

Реферат

Для выявления видовой специфичности сырья при помощи методов пептидного фингерпринта проведены научно-исследовательские работы на различных образцах мясного сырья и выработанных из него мясной продукции. В результате протеомного анализа длиннейшей мышцы спины (т. Longissimus dorsi) говядины, свинины, конины и верблюда были выявлены белковые фракции, которые располагались в широком диапазоне молекулярных масс и изоэлектрических точек. Фракционирование модификацией двумерного электрофореза с изоэлектрофокусированием в амфолиновом градиенте рН (IEF-PAGE) белковых экстрактов конины, верблюжатины, свинины и говядины обеспечило получение 61, 114, 55 и 51 белковых фракций при окраске Кумасси R-250. Количество данных фракций определяли автоматически на цифровых изображениях двумерных электрофореграмм (ДЭ). Наиболее информативными белками для определения видовой специфичности были выбраны белки сократительного актомиозинового комплекса (миозиновые легкие цепи, тропомиозины, тропонины); ферменты энергетического обмена (креатинфосфокиназа, субъединицы АТФ-синтазного и цитохромных комплексов); ферменты, участвующие в обмене углеводов (альдолаза А, глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа, β-енолаза).Дополнительно в конине и верблюжатине хорошо детектировались и обладали высокой видовой специфичностью α- и β-гемоглобины.

Введение

В современном обществе проблема идентификации мясного сырья, входящего в состав готовой продукции, приобрела первостепенную важность, в связи с разгоревшимся в 2013 году скандалом с обнаружением конины в составе различных мясных блюд (от гамбургеров до фрикаделек), продававшихся в некоторых супермаркетах Великобритании и Ирландии. Позднее конина была идентифицирована в пищевых продуктах ряда других европейских стран (Германия, Дания, Швеция). Выяснилось, что, по крайней мере, в 50 000 т говядины можно также обнаружить конину. При проведении соответствующего контроля было установлено, что в 5-7,5% проб мяса, исследованных в странах ЕС в рамках национального контроля качества, результаты на наличие конины оказались положительными [1].

Так, например, мясная продукция, для изготовления которой используется говядина от молодняка категории экстра, могут быть фальсифицированы за счет замены мясным сырьем с более низкой коммерческой ценностью.

Целесообразность проведения данной работы сопряжена также с проблемами мясоперерабатывающих предприятий, использующих мясное сырье, полученное от различных видов сельскохозяй-

ственных животных, в односменной работе. Разработка критериев отнесения компонентов продукта к технологически неустранимым примесям — работа трудоемкая и длительная, включающая в себя широкомасштабный мониторинг. В первую очередь это касается необходимости маркировки незаявленных компонентов в продукции, попадание которых в продукт невозможно предотвратить.

Наличие надписи на этикетке «возможно незначительное содержание», «содержит следовые количества» и им подобные не обеспечивают точных критериев отнесения, является ли не заявленный компонент преднамеренно внесенным или технологически неустранимой примесью. Данный факт может способствовать появлению ситуаций преднамеренной замены небольшой части сырья в рецептуре, без указания данного компонента в составе (например, замена мясного сырья растительным белком, в частности соевым), но с указанием в маркировке фразы «возможно незначительное содержание... » или аналогичных по смыслу. Так как в Технических регламентах Таможенного союза количественно не определены границы «незначительного содержапривлечь недобросовестных производителей к административной ответственности будет невозможно,

RAW MEAT IDENTIFICATION BY PEPTIDE FINGERPRINT

Vostrikova N.L., Tchernukha I.M., Kulikovskii A.V.

The V. M. Gorbatov All-Russian Meat Research Institute

Key words: beef, pork, horse meat, camel meat, proteomics, muscle proteins, peptide fingerprint, 2D-electrophoresis, MALDI-TOF mass spectrometry

Summary

Different samples of raw meat were analyzedin order to find and identify proteins of species specificity by peptide fingerprint method. The results of proteomic analysis of beef, pork, horse and camel meat samples (m. Longissimus dorsi) revealed protein fractions in a wide range of molecular masses and isoelectric points. By using a modification of the two-dimensional electrophoresis with isoelectrofocusing in ampholine pH gradient (IEF-PAGE) 61, 114, 55, and 51 protein fractions stained in Coomassie^T Brilliant Blue R-250 for horse meat, camel meat, pork and beef of protein extracts respectively were obtained. The number of fractions were determined automatically by two-dimensional electrophoregram (DE) digital image analysis. Contractile proteins of the actomyosin complex (myosin light chain, tropomyosin, troponin); metabolic enzymes (creatine, ATP subunits), enzymes involved in the metabolism of carbohydrates (aldolase a, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, β-enolase) were found to be the most informative and chosen as protein markers of species specificity. α – and β -hemoglobins were additionally selected as high species specific markers for horse and camel meat

можно прогнозировать претензии со стороны контролирующих организаций при проведении государственного контроля в случае выявления любого незначительного количества незаявленных компонентов (например, методом ИФА выявляется компонент, содержащийся в количестве 0,0001 мкг/г).

Наряду с экономическими аспектами идентификация вида животного имеет большое значение с этнической и религиозной точки зрения. Так, в иудаизме и исламе существует принципиальный запрет на использование в пищу мяса свинины.

В иудаизме конина считается некошерной пищей. Кроме того, часть населения, исповедующего ислам, также не употребляет в пищу конину. Индусы не употребляет в пищу говядину [2]. В связи с чем, потребитель желает быть уверен в том, что он покупает продукт, соответствующий по составу заявленному на маркировке.

На базе ВНИИМП им. В. М. Горбатова уже не первый год проводятся работы по изучению белкового профиля мясного сырья, в частности выявления и идентификации видоспецифичных белков.

В настоящее время в практике лабораторного анализа видовой специфичности мясного сырья используют ряд методов, базирующихся на идентификации видо-

специфичной ДНК (различные вариации полимеразной цепной реакции), а также альтернативный им метод твердофазиммуноферментного анализа, в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело. Несмотря на свои преимущества, данные методы имеют ряд недостатков, каждый из методов имеет свои критические точки/слепые зоны, так, при глубокой технологической переработке сырья, как то кислотный гидролиз, длительное автоклавирование, сухой жар (мясо-костная мука) молекулы ДНК могут сильно деградировать, что резко снижает чувствительность метода. Есть рафинированные продукты, в которых отсутствует ДНК и их невозможно идентифицировать ПЦР методами. Так как при производстве пишевых продуктов может произойти распад ДНК (при производстве мясных продуктов это наблюдается крайне редко), то определение следовых количеств веществ в этих пищевых продуктах при определенных обстоятельствах является проблематичным. Что касается ПЦР-анализа, при подборе матрицы (ее длины и плотности) при проведении анализа могут возникать ошибки для идентификации специфичных фрагментов ДНК. Так же для проведения анализа ПЦР требуются дорогостоящие наборы для экстракции ДНК.

В случае иммуноферментного анализа, отсутствие высокоспецифических антител может привести к перекрестным реакциям, особенно при исследовании мясного сырья, полученного от животных близкородственных видов. Некоторые проблемы могут возникнуть и в случае анализа состава мясных продуктов, выработанных с использованием ряда технологических приемов (например, тепловой обработки), которые существенно снижают чувствительность реакции антиген-антитело, вследствие изменения структуры белков [3].С другой стороны, белок как последовательность аминокислот, представляется более стабильной структурой для исследования.

Одной из наиболее динамично развивающихся областей современной молекулярной биологии является протеомика — исследование белкового пула организма (протеома) как единого целого. К числу ведущих методологий в протеомных исследованиях относится масс-спектрометрия высокого разрешения с мягкими методами ионизации. Как правило, тандемные масс-спектрометры в протеомике используются для анализа смесей белков, представленных продуктами из-

бирательного ферментативного гидролиза. Получаемые масс-спектры представляют собой фрагментные масс-спектры пептидов -продуктов гидролиза. Важнейшая задача при обработке получаемых данных — это восстановление аминокислотной последовательности пептида по его фрагментному спектру, так называемый «пептидный фингерпринт».

Одним из перспективных, но пока недостаточно алгоритмически проработанных подходов к интерпретации фрагментных масс-спектров является частичное восстановление аминокислотной последовательности по наблюдаемым в спектрах сериям основных фрагментов пептида. Такая методика интерпретации фрагментных масс-спектров получила в мировой научной литературе название Peptide Sequence Tag (PST). PST подход к интерпретации масс-спектров имеет следующие достоинства:

- □ высокая скорость интерпретации;
- устойчивость результата интерпретации масс-спектра по отношению к посттрансляционным модификациям, точечным мутациям, неполному и неспецифичному гидролизу;
- □ высокая надежность получаемых результатов интерпретации, обусловленная использованием информации, действительно присутствующей в масс-спектре.

Преимущества стратегий обработки данных, основанных на методе поиска PST, обеспечили широкое распространение этого метода интерпретации масс-спектров среди биологов. стратегии обеспечивают более полное использование масс-спектрометрической информации за счет распознавания спектров модифицированных пептидов, идентификацию белков на основе спектров низкого качества, содержащих малое количество информативных сигналов и большое количество шума, идентификацию пост-трансляционных модификаций белка, идентификацию ближайших гомологов исследуемого белка [4].

До недавнего времени не существовало удачных реализаций алгоритмов поиска PST и часто распознавание PST проходит вручную, порождая большое количество монотонной работы.

Только в самое последнее время появилось оборудование, удачно воспроизводящее частичное восстановление аминокислотной последовательности пептидов. Однако одним из существенных недостатков существующих алгоритмов является то, что каждый алгоритм разрабатывается для конкретного класса приборов, и не может быть впоследствии адаптирован к приборам другого класса.

В настоящее время протеомные технологии стали привлекать для решения ряда актуальных задач, связанных с изучением мясного сырья и мясных продуктов. С этими целями проводятся активные исследования, касающиеся изучения спектров белков (протеомных профилей) мясного сырья и мясной продукции, поиска специфичных биомаркеров определения не мышечных белков в мясном сырье и мясных продуктах [5, 6].

В продолжение ранее начатых исследований белков мясного сырья и мясных продуктов с помощью протеомных технологий [3, 7] в данной работе представлены результаты изучения мышечных белков мясного сырья и выработанной из него мясной продукции.

Объекты и методы исследования

Для идентификации специфичных пептидных маркеров в первую очередь внимание уделялось миофибриллярным и саркоплазматическим белкам, так как эти белки мяса имеются в большом количестве и тем самым можно рассчитывать на высокую чувствительность метода. Кроме того, эти белки полностью растворяются в буфере. Были исследованы такие виды мяса, как говядина, свинина, конина и верблюжатина. Из найденных в белковой базе данных пептидных маркеров, специфичных для данного вида животных, для разработки метода ВЭЖХ в сочетании с тандемной масс-спектрометрией были отобраны самые чувстви-

Образцы длиннейших мышц лошади и верблюда (*m. Longissimus dorsi*) и национальных продуктов, изготовленных с их использованием, были получены от МПЗ «Сафа» и от Алматинского технологического университета, свинины и говядины получены от ООО «Губкинский мясокомбинат».

Для экстракции белков брали по 300 мг тонко измельченной говядины, свинины, конины и верблюжатины смешивали с 4 мл экстракционного буферного раствора (0,3 моль КСІ, 0,15 моль КН $_2$ РО $_4$, и 0,15 моль КН $_2$ РО $_4$, рН 6,5) и хранили 2 часа при комнатной температуре при постоянном перемешивании путем встряхивания. Затем осуществляли центрифугирование в течение 60 минут при 40 °С и скорости вращения центрифуги 12000 об./мин. Из надосадочной жидко-

сти брали 100 мкл, выпаривали в потоке азота при 39 °C и помещали в 100 мкл 6 молярного раствора мочевины. После восстановления дитиотреитолом (ДТТ) и алкилирования йодистым ацетамидом (ІА) происходил процесс расщепления под действием трипсина в течение ночи при 37 °C при медленном перемешивании путем встряхивания. Затем пробы разбавляли деионизированной водой в соотношении 1:2 и обессоливали на колонке Strata-X (30 мг). Для этого брали 1 мл смеси, состоящей из 5 % метанола и 1% муравьиной кислоты, и промывали водой. Элюирование пептидной смеси осуществлялась с применением 1 мл ацетонитрила/воды (90:10; 0,1% муравьиной кислоты). Элюат помещали в пробирки Эппендорфа с 5 мкл диметилсульфоксида (DMSO). Для обеспечения точной идентификации были выбраны, как минимум, 3 MRM-перехода (переходы в режиме мониторинга множественных реакций) при применении тандемной масс-спектрометрии. Оптимизация параметров масс-спектрометрии осуществлялась на основе исследования пептидных экстрактов или синтетических пептидов. Для верификации специфичности полученных в базе данных пептидных маркеров были исследованы различные матрицы, чтобы исключить возможное получение ложно положительных результатов. Это было необходимо, так как, с одной стороны, протеомные данные являются неполными, и в связи с этим информация о выбранных в базы данных пептидах как наиболее важных может быть не совсем точной, а, с другой стороны, при использовании метода ВЭЖХ в сочетании с тандемной масс-спектрометрией на основании небольшой разрешающей способности квадрупольного масс-спектрометра возможно дублиро-

вание MRM-переходов, что может привести к получению ложно положительных результатов.

В качестве основных протеомных технологий применяли двумерный электрофорез по O'Farrell с изоэлектрофокусированием в амфолиновом (IEF-PAGE) градиенте рН; последующую детекцию белков проводили окрашиванием Кумасси R-250, как описано ранее [7].

Количество фракций определяли автоматически на цифровых изображениях ДЭ с помощью программы ImageMaster 2D Platinum версия 7 («GE Healthcare», Швейцария).

При подготовке пробы для проведения ВЭЖХ растворитель выпаривали в условиях вакуума при 40 °С до сухого остатка. Это было необходимо для того, чтобы исключить «приклеивания» пептидов к поверхности пробирок и тем самым увеличить степень обнаружения компо-

Рисунок 1. ДЭ белков m. Longissimus dorsi: A — лошади (Equuscaballus); Б — верблюда (Camelus bactrianus); В — свинины(Susscrofa); Г— говядины(Bostaurus). Стрелками и номерами (1-61; 1-114;1-55;1-51) -обозначены фракции, идентифицированные MALDI-TOF MS В

нентов. Для анализа проб была выбрана система вода/ацетонитрил (97:3; 0,1% муравьиной кислоты). Масс-спектрометрическая идентификация расщепленных трипсином пептидов осуществлялась после разделения смеси методом ВЭЖХ на колонке RP18 с применением 2-х различных систем масс-спектрометров (методами MALDI-TOF MS и MS/MS масс-спектрометрии на MALDI - времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex («Bruker», Германия) с УФ-лазером (336 нм) в режиме положительных ионов в диапазоне масс 500-8000 Да с калибровкой их по известным пикам аутолиза трипсина). Идентификацию белковых фракций на электрофореграммах осуществляли после трипсинолиза.

Белки идентифицировали на основе пептидных карт, осуществляя поиск по базе данных белковых последовательностей NCBI (Национальный центр биотехнологической информации) с использованием программного обеспечения MASCOT (http://www.matrixscience.com). Первоначальные параметры поиска предусматривали пропуск одного трипсинового расщепления, карбамидометили-

рование цистеина, частичное окисление метионина и погрешность отношения массы к заряду (m/z) на уровне 25 ppm.

При сравнительном анализе протеомных профилей использовали информационные модули UniProtKB Швейцарского Института биоинформатики [8].

Результаты исследований

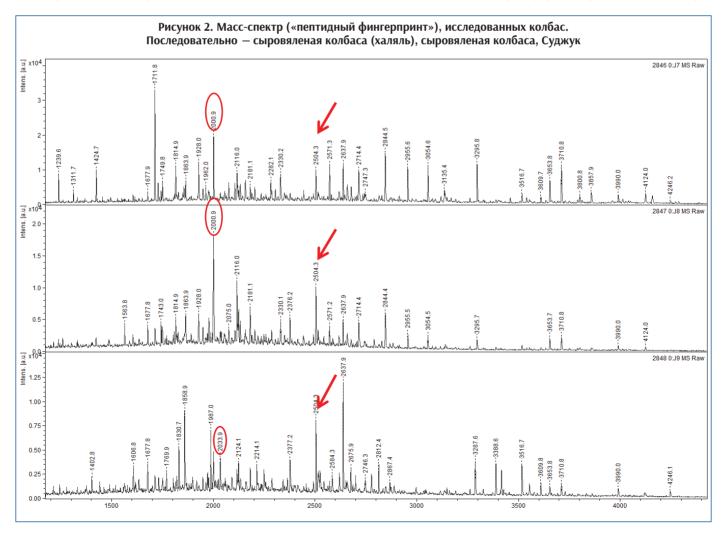
Фракционирование модификацией двумерного электрофореза с изоэлектрофокусированием в амфолиновом градиенте pH(IEF-PAGE) белковых экстрактов из образцов длиннейшей мышцы конины, верблюжатины, свинины и говядины (рисунки 1 А, Б, В, Г), обеспечило получение 61, 114, 55 и 51 белковых фракций при окраске Кумасси R-250. Более подробное описание всех выявленных белков представлено в информационном модуле «Белки скелетных мышц» в общедоступной базе данных «Протеомика мышечных органов», интернет-адрес: http://mp.inbi.ras.ru.

При этом общее распределение на ДЭ выявленных белковых фракций было достаточно характерным и хорошо сравнимым с распределением мышечных

белков ранее исследованных животных [9]. Особенно наглядно сходство обнаруживалось при сравнении мажорных фракций ДЭ тропомиозинов и легких цепей миозина (МЛЦ) (отмечено пунктирным прямоугольником на ДЭ рисунок 1).

Наиболее информативными в качестве белков видовой специфичности оказались белки сократительного актомиозинового комплекса (миозиновые легкие цепи, тропомиозины, тропонины); ферменты энергетического обмена (креатинфосфокиназа, субъединицы АТФ-синтазного и цитохромных комплексов); ферменты, участвующими в обмене углеводов (альдолаза А, глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа, β-енолаза), дополнительно в конине и верблюжатине хорошо детектировались и обладали высокой видовой специфичностью так же $-\alpha$ - и β -гемоглобины [3, 7, 10].

По предварительно полученным ДЭ можно сказать о предположительно выявленных белках. Подтверждение выявленных белков проводили методом пептидного фингерпринта. Представляющие интерес



зоны отделяли, и белки подвергали триптическому расщеплению в геле, а затем производили экстракцию пептидов. Пример представлен на **рисунке 2**.

В результате, во всех исследованных продуктах был идентифицирован миоглобин: номер в Protein NCBI 386783169, Mm/pI (расчет.) 16,9/5,98.

Первые 2 исследуемых образца оказались сходны по спектрам, в них присутствуют идентичные пики масс, а в образце Суджук имелись более выраженные различия.

Так, в наборе одинаковых пептидов миоглобина всех исследованных образцов присутствовал пептид m/z 2504.3236 (отмечено стрелкой на рисунке 2) со следующей аминокислотной последовательностью KKKGHHEAELKP-LAQSHATEHK (77-98), при наличии во всех 3-х видах пептида тропонина Т мышц быстрого типа. Кроме этого, были определены протяженные последовательности 3-х неизвестных белков. При анализе в ручном режиме удалось выяснить, что пептид с m/z 2000.9168 (отмечено овалом на рисунке 2), является пептидом 14-28 аминокислотной последовательности YKPEEEYPDI/ LSKHNN М-креатинкиназы мышечного типа, и данный пик есть во всех видах исследованных колбас.

По полученным результатам можно с большой долей вероятности предположить, что определенно имеются несколько сходных пептидов, выявляемых как в мясном сырье, так и в продуктах из него.

На основании проведённых исследований методика, позволяющая определить присутствие свинины, говядины, конины и верблюжатины как в сыром фарше, так и в термообработанном продукте при их содержании не менее 5 % достаточно хорошо позволила подтвердить аутентичность мясного сырья.

Выводы

Разработанная методология выявления видоспецифичности мясного сырья в качестве ответа «есть/нет» незаявленный компонент зарекомендовала себя на высоком уровне, что же касается количественных значений методология имеет априорные ограничения: различия физико-химических свойств отдельных пептидов напрямую влияют на возможность их детекции.

Например, миоглобины конины/говядины/верблюжатины/свинины дают дискретные пятна, различающиеся по Мм и рІ, что позволяет визуально определить их наличие на полученных электрофореграммах, однако миоглобины конины и верблюжатины для дифференцировки между собой малопригодны, вследствие высокой гомологии и совпадения по электрофоретическим характеристикам.

Поэтому дополнительно было принято решение о замене данных белковых именно в этом мясном сырье на фракции α и β гемоглобина, которые имели лучшую видоспецифичность и хорошо дифференцируются и идентифицируются.

В дальнейшем будут проведены работы по сравнительной расшифровке всех выявленных белков для более глубокого

практического применения выработанных принципов и алгоритмов идентификации, которые будут направлены на выявление отклонений от технологических рецептур и прогнозирование функционально-технологических свойств мясных продуктов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-16-10073).

(i) KOHTAKTЫ:

Вострикова Наталья Леонидовна

русствоуа⊚list.ru

Чернуха Ирина Михайловна

imcher@inbox.ru

Куликовский Андрей Владимирович kulikovsky87@gmail.com

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

REFERENCES:

- 1. Jira, W. Aktuelles aus der internationalen Fleischforschung Massen spekrtrometrischer Nachweis von Tierarten und Klebefleisch // Fleischwirtschaft. − 2014. − № 5. P. 98–101
- 2. Электронный ресурс.URL: https://www.interfax.by/article/95022 (дата обращения 10.05.2017)
- 3. Манюхин, Я.С. Изучение белков конины с помощью протеомных технологий / Я.С. Манюхин, И.М. Чернуха, Л.И. Ковалев и др. // Все о мясе.— 2014.— № 3.— С. 20–24.
- Лютвинский Я. И. Частичная расшифровка аминокислотной последовательности пептида по его фрагментному масс-спектру: алгоритм и результаты применения/ Я. И. Лютвинский, В. В. Макаров, В. В. Краснов и др. // Научное приборостроение.— 2006. Т.16. № 3. С. 122–131.
- 5. Lomiwes, D. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review/D. Lomiwes, M. M. Farouk, E. Wiklund, O. A. Young // Meat Science. 2013. 1/196 № 1 ₽ 26–40
- 6. Pares, D. Low-salt porcine serum concentrate as functional ingredient in frankfurters/ D. Pares, E. Saguer, N. Pap, M. Toldra, C. Carretero // Meat Science.— 2012.— V. 92.— № 2.— P. 151–156.
- Ковалев, Л. И. Протеомное изучение белков в образцах свинины и выработанных из нее мясных продуктах /Л.И. Ковалев, С. С. Шишкин, М. А. Ковалева, А. В. Иванов, Н. Л. Вострикова, И. М. Чернуха // Все о мясе. 2013. № 3. С. 32–34.
- 8. Электронный ресурс. URL: http://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html/ UniProtKB/Swiss-Prot/SIB Швейцарский Институт биоинформатики (дата обращения: 10.05.2017).
- 9. Шишкин, С.С. Применение протеомных технологий для анализа мышечных белков сельскохозяйственных животных, используемых в мясной промышленности (обзор) / С.С. Шишкин, Л. И. Ковалев, М. А. Ковалева и др. // Прикладная биохимия и микробиология. 2014. № 5. С. 453–465.
- Манюхин, Я. С. Изучение белков мышечной ткани верблюда (Camelus bactrianus) с использованием протеомных технологий / Я. С. Манюхин, И. М. Чернуха, Н. Л. Вострикова и др. // Все о мясе. — 2016. — № 6. — С. 24–28.

Elektronnii resurs. URL: https://www.interfax.by/article/95022(data obrashenia: 10.05.2017)

Manyukhin, Y. S. Izuchenie belkov koninyi s pomoschyu proteomnyih tehnologiy [Study of horse meat protein swith the help of proteomic technologies] / Y. S. Manyukhin, I. M. Tchernukha, L. I. Kovalev, A. V. Ivanov, M. A. Kovaleva, S. S. Shishkin // Vsyo o myase.—2014.— Nº 3.— P. 20–24.

Lutinski, Y.I. Chasticnaya rasshifrovka aminokislotnoi posledovatelnosti peptida po ego fragmentnomy mass-spektru: algoritm i resultati primenenia [Partial decoding of the peptide amino acid sequence from its fragmented mass spectrum: algorithm and results of application] / Y.I. Lutinski, V.V. Makarov, V.V. Krasnov i dr. // Naucnoe priborostroenie. – 2006. – T. 16. – № 3. – P. 122–131.

Lomiwes D. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review/ D. Lomiwes, M. M. Farouk, E. Wiklund, O. A. Young // Meat Science.— 2013.— V.96.— № 1.— P. 26–40.

Pares, D. Low-salt porcine serum concentrate as functional ingredient in frankfurters / D. Pares, E. Saguer, N. Pap, M. Toldra, C. Carretero // Meat Science. $-2012.-V.92.-N^{\circ}2.-P.151-156.$

Kovalev L. I. Proteomnoe izuchenie belkov v obraztsah svininy i vyirabotannyih iz nee myasnyih produktah [Proteomic study of proteins in pork samples and meat products derived from it] / L. I. Kovalev, S. S. Shishkin, M. A. Kovaleva, A. V. Ivanov, N. L. Vostrikova, I. M. Tchernukha // Vsyo o myase. – 2013. – № 3. – P. 32–34.

Elektronnii resurs. URL: http://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html/ UniProtKB/Swiss-Prot/SIB. (dataobrashenia: 10.05.2017).

ShishkinS.S. Primenenie proteomnih tehnologii dla analisa mishechnih belkov selskohozaistvennih hivotnih, ispolsyemih v myasnoi promihlennsti [Application of proteomic technologies for the analysis of muscle proteins of farm animals used in the meat industry (overview)]/ S. S. Shishkin, L. I. Kovalev, M. A. Kovaleva et.al. // Prikladnayabiohimiya i mikrobiologiya.— 2014.— № 5.— P. 453–465.

Manyukhin, Y. S. Izuchenie belkov mishecnoi tkani verblyuda (Camelus bactrianus) s ispolzovaniem proteomnih tehnologii [Study of camel musclet issue proteins (Camelus bactrianus) using proteomic technologies] / Y. S. Manyukhin, I. M. Tchernukha, N. L. Vostrikova et.al. // Vsyo o myase. – 2016. – № 6. – P. 24–28.