DOI: https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-539-546

Поступила 28.08.2023 Поступила после рецензирования 13.12.2023 Принята в печать 18.12.2023 © Полищук Е. К., Арюзина М. А., Спирина М. Е., Котенкова Е. А.,2023

> ВЛИЯНИЕ рН НА ИЗВЛЕЧЕНИЕ БЕЛКОВ ИЗ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ SUS SCROFA

Полищук Е. К., Арюзина М. А., Спирина М. Е., Котенкова Е. А.*

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

электрофорез, ІтадеЈ, pI, агрегация, ферменты, протеолиз, биологически активные вещества Поджелудочная железа (ПЖ) свиней содержит множество ферментов, структурных, регуляторных, секреторных, рецепторных и других биологически активных веществ, обеспечивающих как функционирование органа, так и его биологическую роль в организме. Целью настоящей работы было изучение влияния изменения рН в 0,9%-м растворе хлорида натрия, использующегося в качестве экстрагента, на эффективность извлечения биологически активных веществ белковой природы из поджелудочной железы свиней. Экстракцию проводили 0,9% NaCl, 0,9% NaCl pH≤4 и 0,9% NaCl, рН=8,5 со скоростью перемешивания 400 об/мин в течение 150 мин при 4 °С, соотношение ПЖ: экстрагент 1:5, супернатант отделяли центрифугированием. Концентрация белка была измерена биуретовой реакцией на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Biochem SA. Протеомный состав экстрактов и нативной поджелудочной железы оценивали методом одномерного электрофореза по Лэммли в 10% полиакриламидном геле в камере VE-10. Полные цифровые изображения электрофореграмм получали с помощью сканера Bio-5000 Plus, затем их редактировали в графическом редакторе и анализировали с помощью программного обеспечения ImageJ. При определении интенсивности белковых фракций отмечалось, что применение 0,9% NaCl способствовало большему выходу в экстрагент белков с молекулярными массами (Мм) 200 кДа, 150 кДа, 69 кДа, 52 кДа и 33 кДа, смещение рН в кислую область стимулировало выход фракций с молекулярными массами 130 кДа, 50 кДа, 49 кДа, 45 кДа, 40 кДа, 30 кДа и 27 кДа, а в щелочную — только 47 кДа и 42 кДа. Большинство протеолитических ферментов ПЖ имеет молекулярную массу в диапазоне 34–23 кДа, за исключением незрелой формы карбоксипептидаз с Мм 45–47 кДа, на полученных электрофореграммах наибольшая интенсивность белковых полос выражена в области с Мм менее 33 кДа. Также отмечалось присутствие интенсивных белковых фракций в области молекулярных масс менее 50–52 кДа и 40 кДа, что может соответствовать таким энзимам, как панкреатическая липаза и фосфолипаза А2, и наличие белковых фракций с Мм выше 130 кДа, соответствующих различным типам и изоформам коллагена и ламинина. Кроме того, такие процессы, как белковая агрегация и протеолиз также могут оказывать влияние на молекулярно-массовое распределение белковых фракций.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование выполнено в рамках темы НИР FNEN-2019–0008 государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

Received 28.08.2023 Accepted in revised 13.12.2023 Accepted for publication 18.12.2023 © Polishchuk E. K., Aryuzina M. A., Spirina M. E., Kotenkova E. A., 2023 Available online at https://www.fsjour.com/jour Original scientific article Open access

INFLUENCE OF pH ON PROTEIN EXTRACTION FROM SUS SCROFA PANCREAS

Ekaterina K. Polishchuk, Marina A. Aryuzina, Maria E. Spirina, Elena A. Kotenkova*

V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS: electrophoresis, ImageJ, pI, aggregation, enzymes, proteolysis, biologically active substances

ABSTRACT

The porcine pancreas contains various enzymes, structural, regulatory, secretory, receptor and other biologically active substances that ensure both the functioning of the organ and its biological role in the organism. The aim of this work was to study the influence of pH changes in 0.9% sodium chloride solution used as an extractant on the efficiency of bioactive protein isolation from the porcine pancreas. The extraction was carried out with the 0.9% NaCl, 0.9% NaCl pH=4 and 0.9% NaCl pH= 8.5 with a stirring speed of 400 rpm for 150 min at 4 °C; the ratio of pancreas; extractant was 1:5, the supernatant was separated by centrifugation. The protein concentration was measured by a biuret reaction on a semi-automatic biochemical analyzer Biochem SA. The proteomic composition of extracts and native pancreas was evaluated by 10% SDS-PAGE according to Laemmli method in the "VE10" chamber. Digital images of electrophoregrams were obtained using a Bio-5000 Plus scanner, edited in a graphic editor and analyzed using ImageJ software. When determining the intensity of protein fractions, it was noted that the use of 0.9% NaCl contributed to a greater yield of proteins with molecular weights of 200 kDa, 150 kDa, 69 kDa, 52 kDa and 33 kDa into the extractant; a pH shift to the acidic area stimulated the yield of fractions with molecular weights of 130 kDa, 50 kDa, 49 kDa, 45 kDa, 40 kDa, 30 kDa and 27kDa, and a pH shift to the alkaline area — only 47 kDa and 42 kDa. Most pancreas proteolytic enzymes have a molecular weight in a range of 34-23kDa, excepting the immature form of carboxypeptidases with MW 45-47kDa. The greatest intensity of protein bands was observed in the region with MW less than 33kDa on the obtained electrophoregrams. The presence of intense protein fractions in the region of molecular weights of less than 50–52kDa and 40kDa was also noted, which may correspond to enzymes such as pancreatic lipase and phospholipase A2, and the presence of protein fractions with MW above 130 kDa corresponding to various types and isoforms of collagen and laminin. In addition, such processes as protein aggregation and proteolysis can also influence the molecular weight distribution of protein fractions.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FNEN-2019–0008 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Полищук, Е. К., Арюзина, М. А., Спирина, М. Е., Котенкова, Е. А. (2023). Влияние pH на извлечение белков из поджелудочной железы Sus scrofa. *Пищевые системы*, 6(4), 539-546. https://doi. org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-539-546 FOR CITATION: **Polishchuk, E. K., Aryzina, M. A., Spirina, M. E., Kotenkova, E. A.** (2023). Influence of pH on protein extraction from Sus scrofa pancreas. *Food Systems*, 6(4), 539-546. https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-539-546

https://www.fsjour.com/jour Научная статья Ореп access

1. Введение

Поджелудочная железа (ПЖ) — сложный орган, состоящий из дифференцированных клеток и внеклеточного матрикса, организованных надлежащим образом для обеспечения ее эндокринных и экзокринных функций [1]. Эндокринный отдел организован в структуры, известные как островки Лангерганса. Они состоят из пяти типов клеток, продуцирующих такие гормоны, как инсулин, глюкагон, грелин, соматостатин и др. [2]. Экзокринная ПЖ является источником ферментов, необходимых для процесса пищеварения [3], включая протеолитические (трипсин и химотрипсин, которые секретируются в виде проферментов: трипсиногена, химотрипсиногена, карбоксипептидаза и эластаза), липолитические (липаза, фосфолипаза и эстераза), гликолитические (лактаза и амилаза) и нуклеолитические (рибонуклеаза и дезоксирибонуклеаза) энзимы [4,5]. Кроме того, ПЖ содержит множество структурных, регуляторных, секреторных, рецепторных и др. белков, обеспечивающих как функционирование органа, так и его биологическую роль в организме.

Поджелудочные железы (ПЖ) свиней ранее активно использовались в больших количествах с целью получения инсулина для пациентов с сахарным диабетом [6], однако сокращение объема переработки скота после 1990-х годов [7], а также внедрение технологий рекомбинантной ДНК [8] привели к резкому снижению объемов переработки этого животного сырья. В настоящий момент протеомный профиль ПЖ свиней продолжает изучаться [9], а некоторые пищевые ферменты по-прежнему получают из ПЖ свиней [10,11,12]. Интересно, что компоненты ПЖ, в частности децеллюляризованный внеклеточный матрикс поджелудочной железы, полученный из поджелудочной железы крысы, могут способствовать развитию ткани поджелудочной железы человека. В связи с этим протеом децеллюляризованной поджелудочной железы свиней разного возраста и пола был также изучен с целью идентификации биоактивных молекул, играющих ключевую роль в создании тканеспецифичных сигналов для инженерии тканей *in vitro* [13].

В Российской Федерации коэффициент переработки поджелудочной железы свиней, несмотря на высокое содержание в ней ценных биоактивных веществ, довольно низкий, и важными остаются вопросы разработки простых технологических решений для извлечения белковых веществ из тканевого матрикса, что соответствует принципам циркулярной экономики. Экстракция на водной основе остается самым бюджетным методом, при котором наиболее важным является знание значения изоэлектрической точки (pI) целевых белков [14]. При смещении рН в щелочную или кислую область белки приобретают отрицательный или положительный заряд. Это приводит к электростатическому отталкиванию между молекулами и гидратации заряженных остатков, что способствует повышению растворимости белков [14,15]. Более того, соли также могут стабилизировать белковые молекулы [14,16]. К примеру, космотропные соли, такие как NaCl, действуют как стабилизатор белка и образуют полярную структуру воды [14,17].

Целью настоящей работы было изучение влияния изменения рН в 0,9%-м растворе хлорида натрия, использующегося в качестве экстрагента, на эффективность извлечения биологически активных веществ белковой природы из поджелудочной железы свиней.

2. Объекты и методы

Поджелудочная железа свиней была отобрана на ООО «Пушкинский мясной двор», Московская область, г. Пушкино. Животное сырье очищали от соединительных тканей, замораживали при минус 18 °C, затем в замороженном виде измельчали и замораживали до дальнейшего проведения экстракции. Измельченную поджелудочную железу (ПЖ) размораживали при температуре 4 °C и смешивали с экстрагентом в соотношении 1:5. Экстракцию проводили в лабораторной диспергирующей установке (ЛДУ, «Лаботекс», Россия) со скоростью перемешивания 400 об/мин; время экстрагирования составляло 150 мин при 4 °C.

Было проведено 3 экстракции со следующими экстрагентами:

- 0,9%-й раствор натрия хлорида (ООО «Гематек», Россия), (0,9% NaCl);
- 0,9%-й раствор NaCl (ООО «Гематек», Россия) с добавлением 1М уксусной кислоты (х. ч., «Компонент-Реактив», Россия) до достижения в растворе значения pH 4,0;
- 0,9%-й раствор натрия хлорида (ООО «Гематек», Россия) с добавлением 1М гидроксида натрия (PanReac AppliChem, США) до достижения в растворе значения pH 8,5.

Значение pH экстрагентов регистрировали с использованием pH-метра ST3100-F (OHAUS, США).

По завершении процесса экстракции супернатант отделяли центрифугированием в течение 5 минут со скоростью 3 500 об/мин (ELMI СМ-6М, Латвия). В каждом образце была измерена концентрация белка путем проведения биуретовой реакции на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Biochem SA (HTI, CШA) с использованием коммерческого реактива «Общий белок» (HTI, США). Измерения выполнялись в трех повторностях.

Протеомный состав экстрактов и нативной поджелудочной железы оценивали методом одномерного электрофореза по Лэммли. Пробоподготовку образцов осуществляли следующим образом: 100 мкл / 100 мг образца смешивали с 1000 мкл лизирующего раствора (9 М мочевина (PanReac, Германия), 5% β-меркаптоэтанол (PanReac, Germany), 2% тритон X-100 (Helicon, Россия), 2% амфолины pH 3-10 (Serva, Германия)). Полученный гомогенат осветляли центрифугированием при 14000 об/мин в течение 20 минут. Затем супернатант отделяли и добавляли к нему в соотношении 1:1 белковый буфер. Для приготовления белкового буфера в пробирки типа «эппендорф» вносили следующие компоненты: 1 мл 10%-го додецилсульфата натрия (SDS, Panreac, Испания), 250 мкл концентрированного β-меркаптоэтанола (PanReac, Germany), 625 мкл 0,5 М Трис-HCl (PanReac, Germany), 1,5 г мочевины (PanReac, Germany), бромфеноловый синий (Helicon, Pocсия) для придания буферу темной окраски, после чего доливали воду до объема 5 мл. Смесь супернатанта с белковым буфером прогревали на кипящей водяной бане в течение 5 минут. Для проведения одномерного электрофореза использовали камеру VE-10 (Helicon, Россия) и заполняли ее 10%-м полиакриламидным гелем. Поверх него заливали 6%-й гель, сделав в нем лунки для внесения образцов. Исследуемые образцы вносили в количестве 15 мкл. В качестве буфера использовали раствор, содержащий 25 мМ трис-HCl (PanReac, Germany), 192 мМ глицина (PanReac, Germany) и 0,1% SDS (PanReac, Germany). Электрофорез осуществляли при следующих параметрах: первые 30 минут — 60 В и далее при 120 В, пока фронт красителя (бромфеноловый синий (Helicon, Россия)) не достигнет нижнего края гелевых пластин. В качестве раствора стандартов применяли маркер, состоящий из препаратов — стандартов молекулярных масс (Thermo Scientific, США). Окрашивание белков проводили в растворе следующего состава: 10% уксусной кислоты (Fisher scientific, United Kingdom), 25% изопропанола (PanReac, Germany), 0,05% кумасси G-250 (Helicon, Россия). Для удаления не связавшегося красителя использовали 10%-ю уксусную кислоту (Fisher scientific, United Kingdom). Окрашивание азотнокислым серебром (PanReac, Germany) осуществляли согласно методике [18]. Электрофореграммы были выполнены в трех повторностях. Для проведения компьютерной денситометрии применяли электрофореграммы, находившиеся во влажном состоянии. Их полные цифровые изображения получали с помощью сканера Bio-5000 Plus (Serva, Германия) в режиме 600 ppi 2D-RGB. Полученные цифровые изображения редактировали в графическом редакторе и анализировали с помощью программного обеспечения ImageJ (National Institutes of Health, США).

Результаты рассчитывались с использованием программы STATISTICA 10.0 и представлялись в виде «среднее значение ± стандартное отклонение». Статистическую достоверность определяли однопараметрическим ANOVA тестом с применением критерия Шеффе. Вероятность 0,05 была выбрана в качестве значимого уровня.

3. Результаты и обсуждение

Результаты определения концентрации белка в экстрактах, полученных с использованием 0,9% натрия хлорида, а также с применением 0,9% натрия хлорида с разными начальными значениями pH, представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Результаты определения концентрации белка в экстрактах

Table 1. Results of determination of the protein concentration in the extracts

Экстрагент	0.9% NaCl	0.9% NaCl, pH=4	0.9% NaCl, pH=8,5
Концентрация белка в экстракте, г/л	24,41±1,08	21,59±1,66	22,69±1,78

Статистически значимых изменений концентраций белка в экстрактах с различными начальными значениями pH обнаружено не было, однако при использовании в качестве экстрагента 0,9%-го раствора хлорида натрия отмечалась наибольшая концентрация белка в экстракте, которая превышала содержание белка в экстракте со смещенным в кислую область значения pH на 15,1%. Молекулярномассовое распределение белкового состава полученных экстрактов оценивали посредством денситометрии одномерных электрофореграмм, представленных на Рисунке 1.



Для дальнейшего анализа выбрано изображение электрофореграммы, окрашенной азотнокислым серебром. Обработка полученного изображения электрофореграмм с помощью программного комплекса ImageJ представлена в виде графика (Рисунок 2), где каждой белковой полосе на электрофореграмме соответствовал определенный пик. Площади каждого пика были измерены и выражены в условных единицах. Результаты приведены в Таблице 2.

Во всех экстрактах присутствовали высокомолекулярные фракции с молекулярной массой (Мм) 200 кДа, 160 кДа и 140 кДа. Они отсутствовали в нативной ПЖ, в которой проявлялась фракция с Мм 170 кДа (площадь пика 683±25 у. е.). Наибольшее присутствие фракции с Мм 200 кДа отмечалось в экстракте 0,9% NaCl и составило 2180,8±50,3 у.е., статистически достоверно превышая вариант со смещением значения рН в щелочную область на 14,4% (р≤0,05). Значения площадей пиков для белковых фракций с Мм 160 кДа и 140 кДа незначительно отличались между образцами. Фракция с Мм 150 кДа наблюдалась во всех образцах, однако интенсивнее всего она проявлялась в экстракте с 0,9%-м раствором NaCl (699,3±29,3 y. e.). Это значение превышало величину ее интенсивности в ПЖ и в экстрак-



304 Ст

Мм, кДа

Ст — стандарт молекулярных масс; 1 — нативная поджелудочная железа (ПЖ); 2 – экстракт ПЖ с 0,9%-м раствором NaCl; 3 – экстракт ПЖ с 0,9%-м раствором NaCl (pH = 4); 4 – экстракт ПЖ с 0,9%-м раствором NaCl (pH = 8,5)

тах с рН=4 и рН≤8,5 в 1,3 раза (р≤0,05), 1,9 раза (р≤0,05) и 1,8 раза (р≤0,05) соответственно. Наименьшая интенсивность фракции 150 кДа отмечалась в экстрактах со смещением рН в кислую и щелочную области (366,7±7,5 и 397,3±66,8 у. е.) и была ниже ее интенсивности в ПЖ на 29,7% (р≤0,05) и 23,8% (р≤0,05) соответственно.

Белковая фракция в области молекулярных масс 130 кДа присутствовала во всех образцах и наиболее интенсивно проявлялась в нативной ПЖ (4310,0±63,1 у. е.), превышая ее интенсивность во всех экстрактах в 1,8 раза (p<0,05), 1,3 раза (p<0,05) и 1,6 раза (p<0,05) соответственно. Наибольший выход этой белковой фракции наблюдался при использовании варианта со смещением значения рН в кислую область. Интенсивность фракции 130 кДа составила

Таблица 2. Площади пиков, соответствующих мажорным белковым фракциям

Table 2 Pea	z areas co	rresponding	to major	nrotein f	fractions
Table 2.1 Ca	k areas co	responding	to major	protein	lactions

Площадь пиков, у. е.								
Мм, кДа	200	170	160	150	140	130	95	
ПЖ	н/о	683,2 ± 25,4	н/о	$521,3 \pm 16,6^{a}$	н/о	4310,0 ± 63,1ª	1146,2 ± 28,4	
0,9% NaCl	$2180,8 \pm 50,3^{a}$	н/о	295,0 ± 49,1	699,3 ± 29,3 ^{b, c}	259,4 ± 58,6	2433,1 ± 105,8 ^{b, c}	н/о	
0,9% NaCl, pH = 4	2027,6 ± 75,0	н/о	264,1 ± 19,5	366,7 ± 7,5 ^{b, d}	257,0 ± 23,3	$3204,7 \pm 97,3^{b,d}$	н/о	
0,9% NaCl, pH = 8,5	1906,3 ± 129,4 ^b	н/о	$305,2 \pm 32,4$	397,3 ± 66,8 ^{b, d}	369,5 ± 47,5	2660,7 ± 157,5 ^{b, c}	н/о	
Площадь пиков, у. е.								
Мм, кДа	85	72	69	52	50	49	47	
ПЖ	568,5 ± 44,2	500,9 ± 15,6	н/о	$2644,3 \pm 50,4^{a}$	$1452,6 \pm 34,4^{a}$	$890,5 \pm 32,3^{a}$	$682,6 \pm 7,7^{a}$	
0,9% NaCl	н/о	н/о	$3782,9 \pm 23,3^{a}$	967,7 ± 76,9 ^b	8724,9 ± 142,6 ^{b, c}	4248,8 ± 56,2 ^{b, c}	1190,5 ± 16,1 ^{b, c}	
0,9% NaCl, pH = 4	н/о	н/о	732,9 ± 17,5 ^b	н/о	$11582,6 \pm 404,8^{b,d,e}$	4813,8 ± 234,4 ^{b, d}	3492,1 ± 17,4 ^{b, d, e}	
0,9% NaCl, pH = 8,5	н/о	н/о	$804,2 \pm 54,5^{\text{b}}$	н/о	$6035,1 \pm 1075,9^{b, d, f}$	4202,3 ± 95,4 ^{b, c}	$5695,6 \pm 146,8^{b,d,f}$	
Площадь пиков, у. е.								
Мм, кДа	45	44	42	40	33	30	27	
ПЖ	н/о	4332,5 ± 129,6	н/о	11641,1 ± 222,2ª	$14781,7 \pm 394,8^{a}$	$7976,0 \pm 411,4^{a}$	$4711,1 \pm 202,2^{a}$	
0,9% NaCl	$1213,4 \pm 10,4^{a}$	н/о	н/о	10397,6 ± 84,5 ^{b, c}	16720,4 ± 309,2 ^{b, c}	12119,8 ± 224,3 ^{b, c}	11206,1 ± 188,6 ^{b, c}	
0,9% NaCl, pH = 4	1581,9 ± 49,6 ^{b, c}	н/о	$794,8 \pm 57,7^{a}$	10967,9 ± 124,5 ^{b, d}	15935,2 ± 177,5 ^{b, d}	$16266,4 \pm 111,9^{b, d, e}$	12203,1 ± 239,4 ^{b, d, e}	
0,9% NaCl, pH = 8,5	$1405,5 \pm 30,9^{b,d}$	н/о	1619,8 ± 57,3 ^b	10736,8 ± 177,9 ^b	$16520,2 \pm 140,5^{b}$	$14230,6 \pm 62,8^{b,d,f}$	9986,1 ± 146,4 ^{b, d, f}	
H (

Примечание: н/о — не обнаружено, * a-b, c-d, e-f — разные буквы обозначают статистически достоверные различия (р ≤ 0,05).

3204,7±97,3 у. е. и превышала величины вариантов с применением 0,9% NaCl и со смещением pH в щелочную область на 31,7% (p <0,05) и 20,4% (p <0,05) соответственно. Белковые фракции с Mm 95 кДа, 85 кДа и 72 кДа проявлялись только в нативной поджелудочной железе и отсутствовали в экстрактах, в то время как белковая фракция с Mm 69 кДа обнаруживалась только в экстрактах. С наибольшей интенсивностью — в экстракте 0,9% NaCl (3782,9±23,3 у. е.), что превышало ее интенсивность экстрактах с pH <4 и pH <8,5 в 5,2 раза (p <0,05) и 4,7 раза (p <0,05) соответственно. В нативной ПЈЖ четко проявлялась фракция с Mm 52 кДа с интенсивностью 2644,3±50,4 у. е., которая присутствовала только в экстракте с 0,9% NaCl и отсутствовала в двух других экстрактах. Ее выход в экстракт был в 2,7 раза ниже (p <0,05), чем детектировалось в ПЖ.

Наиболее ярко были выражены белковые полосы в области Мм менее 50 кДа. Так, в нативной ПЖ присутствовали белковые фракции с Мм 50, 49 и 47 кДа, однако их выраженность в экстрактах была сушественно выше. Наибольшая интенсивность фракции с Мм 50 кДа наблюдалась в экстракте со смещением рН в кислую область и составляла 11582,6±404,8 у. е. Это значение превышало величину интенсивности данной фракции в ПЖ, в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением pH в щелочную область в 8,0 раз (р≤0,05), в 1,3 раза (р≤0,05) и в 1,9 раза (р≤0,05) соответственно. Интенсивность фракции 50 кДа в экстракте с pH≤8,5 составила 6035,1±1075,9 у.е. и была ниже ее интенсивности в других экстрактах на 30,8% (р≤0,05) и 47,9% (р≤0,05) соответственно. Интенсивность фракции с Мм 49 кДа была выше в экстрактах в среднем в 4,7–5,4 раза (р≤0,05) по сравнению с тканью ПЖ. Наибольшая интенсивность фракции с Мм 49 кДа наблюдалась в экстракте со смещением рН в кислую область (4813,8±234,4 у. е.), превышая величину ее интенсивности в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением pH в щелочную область на 13,3% (р≤0,05) и 14,6% (р≤0,05) соответственно. Отмечается возрастающее проявление фракции (Мм 47 кДа) в ряду ПЖ < 0,9% NaCl < 0,9% NaCl, pH≤4 < 0,9% NaCl, pH≤8,5 (682,6±7,7 < 1190,5±16,1 < 3492,1±17,4 < < 5695,66±146,8). Так, наибольшая интенсивность фракции с Мм 47 кДа наблюдалась в экстракте со смещением рН в щелочную область, превышая величину ее интенсивности в ПЖ, в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением pH в кислую область в 8,3 раза (р≤0,05), 4,8 раза (р≤0,05) и 1,6 раза (р≤0,05) соответственно. При этом интенсивность фракции 47 кДа в экстракте с 0,9% NaCl была ниже ее интенсивности в других экстрактах на 65,9% (р≤0,05) и 78,7% (р≤0,05) соответственно. Белковая фракция 44 кДа была представлена только в нативном сырье, однако в экстрактах проявлялись полосы белков с Мм 45 и 42 кДа. Наибольшая интенсивность фракции с Мм 45 кДа наблюдалась в экстракте со смещением рН в кислую область (1581,9±49,6 у. е.), превышая величину ее интенсивности в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением pH в щелочную область на 30,4%

(р≤0,05) и 12,6% (р≤0,05) соответственно. Белковая фракция с Мм 42 кДа детектировалась только в экстрактах с модифицированной величиной рН, причем в экстракте со смещением рН в щелочную область ее интенсивность составила 1619,8±57,3 у. е., превышая величину варианта с рН≤4,5 в 2,0 раза (р≤0,05).

Полосы на электрофореграммах в области Мм 40-27 кДа обнаруживались во всех образцах. Белковая фракция в области молекулярных масс 40 кДа наиболее интенсивно проявлялась в нативной ПЖ (11641,1±222,2 у. е.), превышая ее интенсивность во всех экстрактах 12,0% (р≤0,05), 6,1% (р≤0,05) и 8,4% (р≤0,05) соответственно. В отношении белковой фракции с Мм 33 кДа, напротив, наблюдалось увеличение ее интенсивности в экстрактах. Наибольшей она была при использовании 0,9% NaCl и со смещением pH в щелочную область (16720,4±309,2 у. е. и 16520,2±140,5 у. е. соответственно), и превышала ее интенсивность в нативной ПЖ на 13,1% (р≤0,05) и 11,8% (р≤0,05) соответственно. В целом, резких отличий в изменении интенсивности фракций 40 и 33 кДа не отмечалось. Белковые полосы в области Мм 30 кДа в экстрактах проявлялись интенсивнее по сравнению с нативным сырьем. Наибольшая интенсивность наблюдалась в экстракте со смещением pH в кислую область (16266,4±111,9 у. е.), превышая величину ее интенсивности в ПЖ, в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением pH в щелочную область в 2,0 раза (р≤0,05), на 34,0% (р≤0,05) и 14,3% (р≤0,05) соответственно. Интенсивность фракции 30 кДа в экстракте с использованием 0,9% NaCl составила 12119,8±224,3 у. е. и была ниже ее интенсивности в экстрактах со смещением pH в кислую и щелочную области на 25,5% (р≤0,05) и 14,4% (р≤0,05) соответственно. Интересно заметить, что в нативном сырье присутствовали фракции 27 и 26 кДа с площадями пиков 2763±74 и 1948±157 у.е. соответственно (в Таблице 2 представлена сумма 4711,1 \pm 202,2 у. е.), а в трех экстрактах они были представлены одной мажорной фракцией с площадью 11206,1±188,6, 12203,1 ± 39,4 и 9986,1 ± 146,4 у. е. Ее интенсивность была выше в экстрактах в среднем в 2,1−2,6 раза (р≤0,05) по сравнению с тканью ПЖ. Наименьшая интенсивность наблюдалась в экстракте со смещением рН в щелочную область и была ниже ее величины в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением pH в кислую область на 10,9% (p≤0,05) и 18,2% (р≤0,05) соответственно.

В целом, наиболее заметные отличия на треках электрофореграммы наблюдались в области 50 кДа и ниже. Различная интенсивность белковых фракций, их отсутствие в экстрактах свидетельствует не только о низкой экстрактивности определенных белков, но и об их энзиматической модификации, протеолизе или об агрегации в процессах экстракции. ПЖ содержит множество ферментов, структурных, регуляторных, секреторных, рецепторных и др. белков. В Таблице 3 приведены характеристики основных протеолитических ферментов, присутствующих в ПЖ.

Таблица 3. Характеристики основных протеолитических ферментов, присутствующих в ПЖ свине	Таблица 3.	. Характеристики	основных	протеолитически	іх ферментов	, присутству	ющих в ПЖ	< свиней
--	------------	------------------	----------	-----------------	--------------	--------------	-----------	----------

Table 3. Characteristics of the main proteolytic enzymes present in porcine pancreas

Фермент	Мм, кДа	pI	рН _{опт}	Ссылки	
Трипсиноген Трипсин Пептидаза S1	25,9	6,85			
	24,4/23,5*	7,0/8,26*	7,0-9,0	[10,19-22]	
	23,3	8,26			
	27,5-29,2				
Y WAATDUH CHUOFOU	27,5-29,1/25,6*	6,68-7,43/6,86*			
B2	25,7				
А — — — — — — — — — — — — — — — — — — —	$27,3\pm0,5$				
Амотринсин А В Пептидаза S1 С Пептидаза S1	24,1	8,3	7,0-8,0	[11,23–28]	
	24,1	4,7			
	23,9	6,1			
	28,9/27,3*	4,96/4,96*			
	25,9	4,86			
Карбоксипептидаза А1 В			8,0-10,0		
	47,2/45,6/34,7*	5,13/5,13/5,46*	7,5	[12,29–33]	
	47,4/45,8/34,7*	5,24/5,24/5,73	7,6-7,7	_	
Эластаза Химотрипсиноподобная эластаза 1 Пептидаза S1 Химотрипсиноподобная эластаза 2A Пептидаза S1	21,9-28,821		8,0-10,0		
	28,8/27,1/25,9*	8,42/8,11/8,44*	0.7	-	
	25,7	8,44	8,7 8,1–8,8 [12,34 8,5–9,0		
	28,7/27,1/25,8*	8,33/8,08/7,68*			
	25.6	7.68	8,0		

Примечание: * для зрелого белка в случаях, когда есть белок-предшественник с сигнальным пептидом, пропептидом или пептидом активации.

Согласно систематизированным данным, приведенным в Таблице 3, большинство протеолитических ферментов ПЖ имеют молекулярную массу в диапазоне 34-23 кДа, за исключением незрелой формы карбоксипептизаз с Мм 45-47 кДа. На полученных электрофореграммах наибольшая интенсивность белковых полос выражена в области с Мм менее 33 кДа. Как правило, теоретические Мм и pI немного отличаются от расчетных вариантов [38,39]. Это происходит в связи с наличием посттрансляционных модификаций (фосфорилирование, гликозилирование и т. д.), с отщеплением сигнальных или иных последовательностей, с образованием белковых комплексов, различных белковых изоформ, а также ввиду неспецифического протеолитического расщепления и деградации белка [40].

Вариант рН со смещением в щелочную сторону находился вблизи изоэлектрических точек эластаз и зрелой формы трипсина, которые расположены в области 27 кДа, площадь пика с рН≤8,5 была ниже ее величины в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением рН в кислую область на 10,9% (р≤0,05) и 18,2% (р≤0,05) соответственно. Незрелые формы карбоксипептидаз в области 45-47 кДа характеризовались кислой pI, наибольшая интенсивность фракции с Мм 47 кДа наблюдалась в экстракте со смещением рН в щелочную область, превышая величину ее интенсивности в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением pH в кислую область в 4,8 раза (р≤0,05) и в 1,6 раза (р≤0,05) соответственно. В области 40 кДа существенных различий по интенсивности белковых фракций не наблюдалось, в этом в диапазоне молекулярных масс могут находиться такие белки, как свиная панкреатическая фосфолипаза А2 [41], аннексин А1 [42], а в области 50-52 кДа — свиная панкреатическая липаза [43], α-амилаза [44], рецептор гастрина [45]. Панкреатическая триацилглицероллипаза и белок-2, связанный с липазой поджелудочной железы, имеют pI 5,73-6,10 [46,47], а наибольшая интенсивность фракции с Мм 50 кДа наблюдалась в экстракте со смещением рН в кислую область. Это превышало величину ее интенсивности в экстрактах с 0,9% NaCl и со смещением pH в щелочную область в 8,0 раз (р≤0,05), в 1,3 раза (р≤0,05) и в 1,9 раза (р≤0,05) соответственно. Кроме того, в ПЖ свиней идентифицируются различные типы ламинина в области Мм 200 кДа [48,49], коллаген и его изоформы [50-53] с диапазоном молекулярных масс 116-315 кДа [54-62], что соответствует молекулярно-массовому распределению, полученному в нашей работе.

ПЖ содержит также множество структурных, регуляторных, секреторных, рецепторных и др. белков, а в одной фракции на одномерном электрофорезе, как правило, содержится множество белков со сходной молекулярной массой, но с различной изоэлектрической точкой [63,64]. Кроме того, изменение молекулярно-массового распределения белков может быть следствием протеолитической активности энзимов, которые в большом количестве присутствуют в ткани ПЖ. Для карбоксипептидаз оптимум действия лежит в области рН 7,5-7,7 [31,32], а для трипсина и химотрипсина — в области 7,0-9,0 [10,11,21,22,26,27], в то время как для смеси пищевых ферментов ПЖ оптимумом считается рН 8-10 [12]. В нашей работе рассмотрены разные варианты рН при экстракции, но значительной изменчивости белковых полос, связанных с высокой активацией энзимов, отмечено не было. Это связано с тем, что ферменты трипсин и химотрипсин секретируются в виде проферментов: трипсиногена, химотрипсиногена [4,5], а сама экстракция проходила при 4°С, что было существенно ниже оптимальной температуры действия присутствующих энзимов [12]. С другой стороны, животные ткани подвергаются процессам автолиза [65], которые также происходят в тканях ПЖ post mortem и при экстракции [66-69], что может отражаться на молекулярно-массовом распределении белкового профиля при проведении электрофоретического анализа.

4. Выводы

Поджелудочная железа свиней содержит множество биологически активных веществ, включая гормоны и пищеварительные ферменты. При изучении влияния рН на молекулярно-массовое распределение белковых фракций в полученных экстрактах было показано, что наибольшая интенсивность белковых фракций отмечалась в области молекулярных масс менее 50 кДа. Это соответствует таким энзимам, как панкреатическая липаза (50-52 кДа), незрелые формы карбоксипептидаз (45-47 кДа), фосфолипаза А2 (40 кДа), эластаза и зрелые формы трипсина (27 кДа). В целом, большинство протеолитических ферментов имеет молекулярную массу в диапазоне 34-23 кДа, что соответствовало наибольшей интенсивности белковых полос на полученных треках. Также наблюдалось присутствие белковых фракций, соответствующих согласно величине молекулярных масс различным типам и изоформам коллагена и ламинина. При анализе интенсивности белковых фракций отмечалось, что применение 0,9% NaCl способствовало большему выходу в экстрагент белков с молекулярными массами 200 кДа (2180,8±50,3 у. е.), 150 кДа (699,3±29,3 у. е.), 69 кДа (3782,9±23,3 у. е.), 52 кДа (967,7±76,9 у. е.) и 33 кДа (16720,4±309,2 у. е.). Смещение рН в кислую область стимулировало выход фракций с молекулярными массами 130 кДа (3204,7 ± 97,3 у. е.), 50 кДа (11582,6 ± 404,8 у. е.), 49 кДа (4813,8±234,4у.е.),45 кДа (1581,9±49,6у.е.),40 кДа (10967,9±124,5 у.е.), 30 кДа (16266,4±111,9 у. е.) и 27 кДа (12203,1±239,4 у. е.), а в щелочную — только 47 кДа (5695,6±146,8 у. е.) и 42 кДа (1619,8±57,3 у. е.). Кроме того, такие процессы, как белковая агрегация и протеолиз также могут оказывать влияние на молекулярно-массовое распределение белковых фракций.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- 1. A-Kader, H. H., Ghishan, F. K. (2012). The Pancreas. Chapter in a book: Textbook of Clinical Pediatrics: Springer Berlin Heidelberg. 2012. https://doi. org/10.1007/978-3-642-02202-9 198
- 2. Mastracci, T. L., Sussel, L. (2012). The endocrine pancreas: Insights into development, differentiation, and diabetes. Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology, 1(5), 609-628. https://doi.org/10.1002/wdev.44
- Pandiri, A. R. (2014). Overview of exocrine pancreatic pathobiology. *Toxicologic Pathology*, 42(1), 207–216. https://doi.org/10.1177/0192623313509907
- 4. Karpińska, M., Czauderna, M. (2022). Pancreas Its functions, disorders, and physiological impact on the mammals' organism. Frontiers in Physiology, 13, Article 807632. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.807632
- 5. Chen, X. (2021). Protein Composition and Biogenesis of the Pancreatic Zymogen Granules. Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base. Retrieved from https://www.pancreapedia.org/reviews/protein-composition-and-biogenesisof-pancreatic-zymogen-granules. Accessed August 20, 2023.
- 6. Ladisch, M. R., Kohlmann, K. L. (1992). Recombinant human insulin. Biotechnology Progress, 8(6), 469-478. https://doi.org/10.1021/bp00018a001
- 7. Василевская, Е. Р., Арюзина, М. А., Ветрова, Е.С. (2021). Водно-солевая экстракция как метод получения смеси биологически активных соединений белковой природы из поджелудочной железы свиньи. Пищевые системы,
- 4(2), 97–105. https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-4-2-97-105 8. Siew, Y. Y., Zhang, W. (2021). Downstream processing of recombinant human insulin and its analogues production from E. coli inclusion bodies. Bioresources and Bioprocessing, 8(1), Article 65. https://doi.org/10.1186/s40643-021-00419-w
- 9. Ahn, J. Y., Kim, I. Y., Oh, S. J., Hwang, H. S., Yi, S. S., Kim, Y. N. et al. (2014). Proteomic analysis of domestic pig pancreas during development using two-dimensional electrophoresis and matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. Laboratory Animal Research, 30(2), 45-53. https://doi. org/10.5625/lar.2014.30.2.45
- 10. Lambré, C., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Cocconcelli, P.S., Crebelli, R., Gott, D. M. et al. (2021). Safety evaluation of food enzyme trypsin from porcine pancreas. EFSA Journal, 19(6), Article e06637. https://doi.org/10.2903/j. efsa.2021.6637

- 11. Silano, V., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Cocconcelli, P. S., Crebelli, R., Gott, D. M. et al. (2021). Safety evaluation of a food enzyme containing trypsin and chymotrypsin from porcine pancreas. EFSA Journal, 19(1), Article e06369. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6369
- 12. Silano, V., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Cocconcelli, P. S., Crebelli, R., Gott, D. M. et al. (2021). Safety evaluation of a food enzyme containing trypsin, chymotrypsin, elastase and carboxypeptidase from porcine pancreas. *EFSA Journal*, 19(1), Article e06368. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6368
- 13. Hu, M., Bi, H., Moffat, D., Blystone, M., DeCostanza, L., Alayi, T. et al. (2021). Proteomic and bioinformatic analysis of decellularized pancreatic extracellular matrices. Molecules, 26(21), Article 6740. https://doi.org/10.3390/molecules26216740
- 14. Kotenkova, E. A., Polishchuk, E. K. (2022). Technological approaches to the extraction and purification by ultrafiltration techniques of target protein molecules from animal tissues: a review. Theory and Practice of Meet Processing, 7(2), 76–82. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-2-76-82
- 15. Yasothai, R., Giriprasad, R. (2015). Acid/Alkaline solublization method of processing protein. International Journal of Science, Environment and Technology, 4(1), 96-100.
- 16. Hani, F. M., Cole, A. E., Altman, E. (2019). The ability of salts to stabilize proteins in vivo or intracellularly correlates with the Hofmeister series of ions. International Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 10(3), 23-31.
- 17. Lebendiker, M., Danieli, T. (2014). Production of prone-to-aggregate proteins. FEBS Letters, 588(2), 236–246. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.10.044
- Blum, H., Beier, H., Gross, H. J. (1987). Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. Electrophoresis, 8(2), 93-99. https://doi. org/10.1002/elps.1150080203
- 19. P00761 · TRYP_PIG (Trypsin). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/ uniprotkb/P00761/entry#function. Accessed August 21, 2023. 20. A0A4X1V2S2 · A0A4X1V2S2_PIG (Trypsinogen). UniProt. Retrieved from
- https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A4X1V2S2/entry. Accessed August 21, 2023.
- 21. Zamani, A., Rezai, M., Madani, R. (2013). A comparative study on some kinetic and biochemical properties of trypsin enzyme from Common Kilka (Clupeonella cultriventris caspia) and Porcine. Journal of Fisheries, 66(2), 145-158.

- 22. Deng, Y., Gruppen, H., Wierenga, P. A. (2018). Comparison of protein hydrolysis catalyzed by bovine, porcine, and human trypsins. *Journal of Agricultural and* Food Chemistry, 66(16), 4219-4232. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00679
- 23. G1ARD6 · G1ARD6_PIG (Chymotrypsin C). UniProt. Retrieved from https://www. uniprot.org/uniprotkb/G1ARD6/entry. Accessed August 21, 2023. 24. A0A480M2A7 · A0A480M2A7_PIG (Chymotrypsinogen B2). UniProt. Retrieved from
- A0A400W2A1 A0A400W2A1 110 (chyllidu ypsinogen 22). 01m rot. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A480M2A7/entry. Accessed August 21, 2023.
 A0A480INX1 · A0A480INX1_PIG (Chymotrypsinogen B2). UniProt. Retrieved from
- https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A480INX1/entry. Accessed August 21, 2023. 26. Johnson, K. D., Marshall, S., Clark, A. (2005). A functional comparison of ovine and porcine chymotrypsins. New Zealand Journal of Agricultural Research, 48(3),
- 311–319. https://doi.org/10.1080/00288233.2005.9513661 27. Hudáky, P., Kaslik, G., Venekei, I., Gráf, L. (1999). The differential specificity of chymotrypsin A and B is determined by amino acid 226. European Journal of Biochemistry, 259(1-2), 528-533. https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00075.x
- 28. Горшков, А. В., Придатченко, М. Л., Перлова, Т. Ю., Тарасова, И. А., Горшков, М. В., Евреинов, В. В. (2016). О применимости концепции критической хроматографии к задачам протеомики. І. Влияние природы неподвижной фазы и размеров хроматографической колонки на зависимость времени удерживания пептидов и белков от последовательности аминокислотных остатков в цепи. Журнал аналитической химии, 71(1), 113-128. https://doi.org/10.7868/S0044450216010059
- 29. P09954 · CBPA1_PIG (Carboxypeptidase A1). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/P09954/entry. Accessed August 21, 2023.
- 30. P09955 · CBPB1_PIG (Carboxypeptidase B). UniProt. Retrieved from https://www.
- uniprot.org/uniprotkb/P09955/entry. Accessed August 21, 2023.
 31. Koide, A., Yoshizawa, M., Kurachi, K. (1981). Crystallization and Properties of Carboxypeptidase A, from Porcine Pancreas. *European Journal of Biochemistry*, 117(2), 383–388. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1981.tb06349.x
- 32. Südi, P., Dala, E., Szajáni, B. (1989). Preparation, characterization, and application of a novel immobilized carboxypeptidase B. Applied Biochemistry and Biotechnology, 22(1), 31-43. https://doi.org/10.1007/BF02922695
- Carboxypeptidase B from porcine pancreas. MERCK. Retrieved from https://www. sigmaaldrich.com/RU/en/product/sigma/c9584. Accessed August 21, 2023.
- 34. P00772 · CELA1_PIG (Chymotrypsin-like elastase family member 1). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/P00772/entry. Accessed August 21, 2023.
- 35. Ardelt, W. (1974). Partial purification and properties of porcine pancreatic elastase II. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Enzymology, 341(2), 318-326.
- https://doi.org/10.1016/0005-2744(74)90224-1
 36. Sundberg, L., Kristiansen, T. (1972). Chemical fixation of elastase to agarose. *FEBS Letters*, 22(2), 175–177. https://doi.org/10.1016/0014-5793(72)80037-1
- 37. Elastase, Porcine Pancreas, High Purity, Crystallized. MERCK. Retrieved from https://www.sigmaaldrich.com/RU/en/product/mm/324682. Accessed August 21, 2023
- 38. Полищук, Е. К., Котенкова, Е. А., Ковалев, Л. И. (2023). Методологические подходы к извлечению веществ с антимикробной направленностью дей-ствия из сырья животного происхождения. Все о мясе, 3, 70–76. https://doi. org/10.21323/2071-2499-2023-3-70-76
- 39. Kotenkova, E., Lukinova, E., Kovalyov, L. (2018). Bovine mucous membranes as a source of antimicrobial compounds. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences, 12(1), 667-672. https://doi.org/10.5219/976
- 40. Szczesna, K. (2019). Why Does the Molecular Weight of My Protein Differ from the Theoretically Expected Weight? Technology Networks – Proteomics & Me-tabolomics. Retrieved from https://www.technologynetworks.com/proteomics/ articles/why-does-the-molecular-weight-of-my-protein-differ-from-the-theoretically-expected-weight-322079. Accessed August 21, 2023.
- 41. van den Berg, B., Tessari, M., Boelens, R., Dijkman, R., Kaptein, R., de Haas, G.H. et al. (1995). Solution structure of porcine pancreatic phospholipase A_2 complexed with micelles and a competitive inhibitor. Journal of Biomolecular NMR, 5(2), 110–121. https://doi.org/10.1007/BF00208802
- 42. P19619 · ANXA1 PIG (Annexin A1). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/P19619/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 43. Gonçalves, G. R. F., Gandolfi, O. R. R., Brito, M. J. P., Bonomo, R. C. F., da Costa Ilhéu Fontan, R., Veloso, C. M. (2021). Immobilization of porcine pancreatic lipase on activated carbon by adsorption and covalent bonding and its application in the synthesis of butyl butyrate. Process Biochemistry, 111(2), 114-123. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.10.027
- 44. Sun, L., Qin, T., Liu, Y., Zhao, H., Xia, X., Lei, X. (2018). Cloning, expression, and characterization of a porcine pancreatic α -amylase in Pichia pastoris. Animal Nutrition, 4(2), 234-240. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.11.004
- 45. Morisset, J., Wong, H., Walsh, J.H., Lainé, J., Bourassa, J. (2000). Pancreatic CCK_B receptors: Their potential roles in somatostatin release and δ -cell proliferation. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 279(1), G148–G156. https://doi.org/10.1152/ajpgi.2000.279.1.G148
- 46. D7EZN2 · LIPR2 PIG (Pancreatic lipase-related protein 2). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/D7EZN2/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.

- 47. P00591 · LIPP_PIG (Pancreatic triacylglycerol lipase). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/P00591/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- A0A287AWV5 · A0A287AWV5_PIG (Laminin subunit beta-2). UniProt. Retrieved 48. from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A287AWV5/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 49. F1RZM4 · F1RZM4 PIG (Laminin subunit alpha 4). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/F1RZM4/entry#sequences. Accessed August 21, 2023
- 50. Vigier, S., Gagnon, H., Bourgade, K., Klarskov, K., Fülöp, T., Vermette, P. (2017). Composition and organization of the pancreatic extracellular matrix by combined methods of immunohistochemistry, proteomics and scanning electron microscopy. Current Research in Translational Medicine, 65(1), 31–39. https://doi. org/10.1016/i.retram.2016.10.001
- 51. Hilling, D., Rijkelijkhuizen, J. K. R. A., Töns, H. A. M., Terpstra, O. T., Bouwman, E. (2009). Amount and distribution of collagen in the pancreas have no effect on porcine islet isolation outcome. Transplantation Proceedings, 41(1), 326-327. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.10.065
- Sackett, S. D., Tremmel, D. M., Ma, F., Feeney, A. K., Maguire, R. M., Brown, M. E. et al. (2018). Extracellular matrix scaffold and hydrogel derived from decellularized and delipidized human pancreas. Scientific Reports, 8(1), Article 10452. https://doi.org/10.1038/s41598-018-28857-1
- 53. Meyer, T., Czub, S., Chodnewska, I., Beutner, U., Hamelmann, W., Klöck, G. et al. (1997). Expression pattern of extracellular matrix proteins in the pancreas of various domestic pig breeds, the Goettingen Minipig and the Wild Boar. Annals of Transplantation, 2(3), 17–26.
- 54. A0A287A1S6 · A0A287A1S6_PIG (Collagen alpha-1(I) chain preproprotein). entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 55. A0A8D0ILD8 · A0A8D0ILD8_PIG (Collagen type III alpha 1 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D0ILD8/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 56. F1SNP0 · F1SNP0_PIG (Collagen type IV alpha 3 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/F1SNP0/entry. Accessed August 21, 2023
- 57. A0A8D0IML7 · A0A8D0IML7_PIG (Collagen type IV alpha 5 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D0IML7/entry. Accessed August 21, 2023.
- 58. A0A286ZXV9 · A0A286ZXV9_PIG (Collagen type IV alpha 4 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A286ZXV9/entry. Accessed August 21, 2023.
- 59. F1S021 · F1S021 PIG (Collagen type V alpha 1 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/F1S021/entry. Accessed August 21, 2023.
- 60. A0A8D0XNT6 · A0A8D0XNT6_PIG (Collagen type V alpha 2 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D0XNT6/entry. Accessed August 21, 2023.
- 61. F1S3G7 · F1S3G7_PIG (Collagen type V alpha 3 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/F1S3G7/entry. Accessed August 21, 2023.
- 62. A0A8D0XY85 · A0A8D0XY85 PIG (Collagen type VI alpha 3 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D0XY85/entry. Accessed August 21, 2023.
- Fedulova, L., Vasilevskaya, E., Tikhonova, O., Kazieva, L., Tolmacheva, G., Maka-renko, A. (2022). Proteomic markers in the muscles and brain of pigs recovered from hemorrhagic stroke. Genes, 13(12), Article 2204. https://doi.org/10.3390/ genes13122204
- 64. Zgoda, V. G., Moshkovskii, S.A., Ponomarenko, E. A., Andreewski, T. V., Kopylov, A. T., Tikhonova, O. V. et al. (2009). Proteomics of mouse liver microsomes: Performance of different protein separation workflows for LC-MS/MS. Proteomics, 9(16), 4102–4105. https://doi.org/10.1002/pmic.200900050 65. Чернуха И. М., Федулова Л. В., Котенкова Е. А., Шишкин С. С., Ковалев Л. И.
- (2016). Влияние автолиза на протеомно-пептидный профиль сердечной мышцы и аорты Bos taurus и Sus scrofa. Теория и практика переработки мяса, 1(2), 4-9. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-2-4-9
- 66. Shimizu, M., Hayashi, T., Saitoh, Y., Ohta, K., Itoh, H. (1990). Postmortem Autolysis in the Pancreas: Multivariate statistical study. The influence of clinicopathological conditions. Pancreas, 5(1), 91-94. https://doi.org/10.1097/00006676-199001000-00013
- 67. Siriwardana, R. C., Deen, K. I., Hevawesenthi, J. (2010). Postmortem sampling of the pancreas for histological examination: What is the optimum cut-off time? JOP: Journal of the Pancreas, 11(1), 87–88.
- Granlund, L., Hedin, A., Wahlhütter, M., Seiron, P., Korsgren, O., Skog, O. et al. 68 (2021). Histological and transcriptional characterization of the pancreatic acinar tissue in type 1 diabetes. BMJ Open Diabetes Research and Care, 9(1), Article e002076. https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2020-002076
- 69. Gill, J. R. (2016). Pancreatitis: A forensic perspective. Academic Forensic Pathology, 6(2), 237-248. https://doi.org/10.23907/2016.025

REFERENCES

- 1. A-Kader, H. H., Ghishan, F. K. (2012). The Pancreas. Chapter in a book: Textbook of Clinical Pediatrics: Springer Berlin Heidelberg. 2012. https://doi. org/10.1007/978-3-642-02202-9 198
- 2. Mastracci, T. L., Sussel, L. (2012). The endocrine pancreas: Insights into development, differentiation, and diabetes. Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology, 1(5), 609–628. https://doi.org/10.1002/wdev.44
- Pandiri, A. R. (2014). Overview of exocrine pancreatic pathobiology. *Toxicologic Pathology*, 42(1), 207–216. https://doi.org/10.1177/0192623313509907
 Karpińska, M., Czauderna, M. (2022). Pancreas Its Functions, Disorders, and
- Physiological Impact on the Mammals' Organism. Frontiers in Physiology, 13, Article 807632. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.807632
- 5. Chen, X. (2021). Protein Composition and Biogenesis of the Pancreatic Zymogen Granules. Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base. Retrieved from https://www.pancreapedia.org/reviews/protein-composition-and-biogenesis-of-pancreatic-zymogen-granules. Accessed August 20, 2023.
- 6. Ladisch, M. R., Kohlmann, K. L. (1992). Recombinant human insulin. Biotechnology Progress, 8(6), 469-478. https://doi.org/10.1021/bp00018a001
- 7. Vasilevskaya E. R., Aryuzina M. A., Vetrova E. S. (2021). Saline extraction as a method of obtaining a mixture of biologically active compounds of protein nature from a porcine pancreas. Food Systems, 4(2), 97-105. https://doi. org/10.21323/2618-9771-2020-4-2-97-105 (In Russian)

- 8. Siew, Y. Y., Zhang, W. (2021). Downstream processing of recombinant human insulin and its analogues production from E. coli inclusion bodies. Bioresources and Bioprocessing, 8(1), Article 65. https://doi.org/10.1186/s40643-021-00419-w
- 9. Ahn, J. Y., Kim, I. Y., Oh, S. J., Hwang, H. S., Yi, S. S., Kim, Y. N. et al. (2014). Proteomic analysis of domestic pig pancreas during development using two-dimensional electrophoresis and matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. Laboratory Animal Research, 30(2), 45–53. https://doi.org/10.5625/lar.2014.30.2.45
- 10. Lambré, C., Barat Baviera, J.M., Bolognesi, C., Cocconcelli, P. S., Crebelli, R., Gott, D. M. et al. (2021). Safety evaluation of food enzyme trypsin from porcine pancreas. EFSA Journal, 19(6), Article e06637. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.663
- 11. Silano, V., Barat Baviera, J.M., Bolognesi, C., Cocconcelli, P.S., Crebelli, R., Gott, D.M. et al. (2021). Safety evaluation of a food enzyme containing trypsin and chymotrypsin from porcine pancreas. EFSA Journal, 19(1), Article e06369. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6369
- 12. Silano, V., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Cocconcelli, P. S., Crebelli, R., Gott, D. M. et al. (2021). Safety evaluation of a food enzyme containing trypsin, chymotrypsin, elastase and carboxypeptidase from porcine pancreas. EFSA Journal, 19(1), Article e06368. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6368 13. Hu, M., Bi, H., Moffat, D., Blystone, M., DeCostanza, L., Alayi, T. et al. (2021). Pro-
- teomic and bioinformatic analysis of decellularized pancreatic extracellular matrices. Molecules, 26(21), Article 6740. https://doi.org/10.3390/molecules26216740
- 14. Kotenkova, E. A., Polishchuk, E. K. (2022). Technological approaches to the extraction and purification by ultrafiltration techniques of target protein molecules from animal tissues: a review. Theory and Practice of Meat Processing, 7(2), 76-82. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2022-7-2-76-82
- 15. Yasothai, R., Giriprasad, R. (2015). Acid/Alkaline Solublization method of processing protein. International Journal of Science, Environment and Technology, 4(1), 96–100.
- 16. Hani, F. M., Cole, A. E., Altman, E. (2019). The ability of salts to stabilize proteins in vivo or intracellularly correlates with the Hofmeister series of ions. International Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 10(3), 23-31.
- Lebendiker, M., Danieli, T. (2014). Production of prone-to-aggregate proteins. *FEBS Letters*, 588(2), 236–246. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.10.044
 Blum, H., Beier, H., Gross, H. J. (1987). Improved silver staining of plant proteins,
- RNA and DNA in polyacrylamide gels. Electrophoresis, 8(2), 93-99. https://doi. org/10.1002/elps.1150080203
- 19. P00761 · TRYP_PIG (Trypsin). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/ uniprotkb/P00761/entry#function. Accessed August 21, 2023.
- 20. A0A4X1V2S2 · A0A4X1V2S2_PIG (Trypsinogen). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A4X1V2S2/entry. Accessed August 21, 2023
- 21. Zamani, A., Rezai, M., Madani, R. (2013). A comparative study on some kinetic and biochemical properties of trypsin enzyme from Common Kilka (Clupeonella cultriventris caspia) and Porcine. Journal of Fisheries, 66(2), 145–158.
- 22. Deng, Y., Gruppen, H., Wierenga, P. A. (2018). Comparison of protein hydrolysis catalyzed by bovine, porcine, and human trypsins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(16), 4219–4232. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00679
- 23. G1ARD6 · G1ARD6 PIG (Chymotrypsin C). UniProt. Retrieved from https://www. uniprot.org/uniprotkb/G1ARD6/entry. Accessed August 21, 2023
- 24. A0A480M2A7 · A0A480M2A7_PIG (Chymotrypsinogen B2). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A480M2A7/entry. Accessed August 21 2023
- 25. A0A480INX1 · A0A480INX1 PIG (Chymotrypsinogen B2). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A480INX1/entry. Accessed August 21.2023.
- 26. Johnson, K. D., Marshall, S., Clark, A. (2005). A functional comparison of ovine and porcine chymotrypsins. New Zealand Journal of Agricultural Research, 48(3),
- 311–319. https://doi.org/10.1080/00288233.2005.9513661
 Hudáky, P., Kaslik, G., Venekei, I., Gráf, L. (1999). The differential specificity of chymotrypsin A and B is determined by amino acid 226. European Journal of Biochemistry, 259(1-2), 528-533. https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00075.x
- 28. Gorshkov, A. V., Evreinov, V. V., Pridatchenko, M. L., Perlova, T. Y., Tarasova, I. A., Gorshkov, M. V. (2016). Applicability of the critical chromatography concept to proteomics problems: I. Effect of the stationary phase and the size of the chromatographic column on the dependence of the retention time of peptides and proteins on the amino acid sequence, *Journal of Analytical Chemistry*, 71(1), 110–125. https://doi.org/10.7868/S0044450216010059 (In Russian) 29. P09954 CBPA1_PIG (Carboxypeptidase A1). UniProt. Retrieved from
- https://www.uniprot.org/uniprotkb/P09954/entry. Accessed August 21, 2023.
- 30. P09955 · CBPB1_PIG (Carboxypeptidase B). UniProt. Retrieved from https://www. uniprot.org/uniprotkb/P09955/entry. Accessed August 21, 2023.
- 31. Koide, A., Yoshizawa, M., Kurachi, K. (1981). Crystallization and properties of Carboxypeptidase A, from porcine pancreas. *European Journal of Biochemistry*, 117(2), 383–388. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1981.tb06349.x
- 32. Südi, P., Dala, E., Szajáni, B. (1989). Preparation, characterization, and application of a novel immobilized carboxypeptidase B. Applied Biochemistry and Biotechnology, 22(1), 31-43. https://doi.org/10.1007/BF02922695
- 33. Carboxypeptidase B from porcine pancreas. MERCK. Retrieved from https://www. sigmaaldrich.com/RU/en/product/sigma/c9584. Accessed August 21, 2023.
 34. P00772 · CELA1_PIG (Chymotrypsin-like elastase family member 1). UniProt.
- Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/P00772/entry. Accessed August 21, 2023.
- 35. Ardelt, W. (1974). Partial purification and properties of porcine pancreatic elastase II. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Enzymology, 341(2), 318-326. https://doi.org/10.1016/0005-2744(74)90224-1
- Sundberg, L., Kristiansen, T. (1972). Chemical fixation of elastase to agarose. FEBS Letters, 22(2), 175–177. https://doi.org/10.1016/0014-5793(72)80037-1
- 37. Elastase, Porcine Pancreas, High Purity, Crystallized. MERCK. Retrieved from https://www.sigmaaldrich.com/RU/en/product/mm/324682. Accessed August 21, 2023.

- 38. Polishchuk, E. K., Kotenkova, E. A., Kovalev, J. I. (2013). Methodological approaches to the extraction of substances with antimicrobial action from animal raw materials. Vsyo o Myase, 3, 70-76. https://doi.org/10.21323/2071-2499-2023-3-70-76 (In Russian)
- 39. Kotenkova, E., Lukinova, E., Kovalyov, L. (2018). Bovine mucous membranes as a source of antimicrobial compounds. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences, 12(1), 667–672. https://doi.org/10.5219/976 40. Szczesna, K. (2019). Why Does the Molecular Weight of My Protein Differ from
- the Theoretically Expected Weight? Technology Networks Proteomics and Metabolomics. Retrieved from https://www.technologynetworks.com/proteomics/articles/why-does-the-molecular-weight-of-my-protein-differ-fromthe-theoretically-expected-weight-322079. Accessed August 21, 2023.
- 41. van den Berg, B., Tessari, M., Boelens, R., Dijkman, R., Kaptein, R., de Haas, G. H. et al. (1995). Solution structure of porcine pancreatic phospholipase A, complexed with micelles and a competitive inhibitor. Journal of Biomolecular NMR, 5(2), 110–121. https://doi.org/10.1007/BF00208802
- 42. P19619 · ANXA1_PIG (Annexin A1). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/P19619/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- Gonçalves, G. R. F., Gandolfi, O. R. R., Brito, M. J. P., Bonomo, R. C. F., da Costa 43. Ilhéu Fontan, R., Veloso, C. M. (2021). Immobilization of porcine pancreatic lipase on activated carbon by adsorption and covalent bonding and its application in the synthesis of butyl butyrate. Process Biochemistry, 111(2), 114-123. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.10.027
- 44. Sun, L., Qin, T., Liu, Y., Zhao, H., Xia, X., Lei, X. (2018). Cloning, expression, and characterization of a porcine pancreatic α -amylase in Pichia pastoris. Animal *Nutrition*, 4(2), 234–240. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.11.004 45. Morisset, J., Wong, H., Walsh, J. H., Lainé, J., Bourassa, J. (2000). Pancreatic CCK_B
- receptors: Their potential roles in somatostatin release and δ-cell proliferation. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 279(1), G148-G156. https://doi.org/10.1152/ajpgi.2000.279.1.G148
- 46. D7EZN2 · LIPR2_PIG (Pancreatic lipase-related protein 2). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/D7EZN2/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- PO0591 LIPP_PIG (Pancreatic triacylglycerol lipase). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/P00591/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 48. A0A287AWV5 · A0A287AWV5_PIG (Laminin subunit beta-2). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A287AWV5/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 49. F1RZM4 · F1RZM4_PIG (Laminin subunit alpha 4). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/F1RZM4/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 50. Vigier, S., Gagnon, H., Bourgade, K., Klarskov, K., Fülöp, T., Vermette, P. (2017). Composition and organization of the pancreatic extracellular matrix by combined methods of immunohistochemistry, proteomics and scanning electron microscopy. Current Research in Translational Medicine, 65(1), 31-39. https://doi. org/10.1016/j.retram.2016.10.001
- 51. Hilling, D., Rijkelijkhuizen, J. K. R. A., Töns, H. A. M., Terpstra, O. T., Bouwman, E. (2009). Amount and Distribution of Collagen in the Pancreas Have No Effect on Porcine Islet Isolation Outcome. Transplantation Proceedings, 41(1), 326-327. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.10.065
- 52. Sackett, S. D., Tremmel, D. M., Ma, F., Feeney, A. K., Maguire, R. M., Brown, M. E. et al. (2018). Extracellular matrix scaffold and hydrogel derived from decellularized and delipidized human pancreas. *Scientific Reports*, 8(1), Article 10452. https://doi.org/10.1038/s41598-018-28857-1
- 53. Meyer, T., Czub, S., Chodnewska, I., Beutner, U., Hamelmann, W., Klöck, G. et al. (1997). Expression pattern of extracellular matrix proteins in the pancreas of various domestic pig breeds, the Goettingen Minipig and the Wild Boar. Annals of Transplantation, 2(3), 17–26. 54. A0A287A1S6 · A0A287A1S6_PIG (Collagen alpha-1(I) chain preproprotein).
- UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A287A1S6/ entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 55. A0A8D0ILD8 · A0A8D0ILD8_PIG (Collagen type III alpha 1 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D0ILD8/entry#sequences. Accessed August 21, 2023.
- 56. F1SNP0 · F1SNP0_PIG (Collagen type IV alpha 3 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/F1SNP0/entry. Accessed August 21, 2023.
 A0A8D0IML7 · A0A8D0IML7_PIG (Collagen type IV alpha 5 chain). UniProt. Re-
- trieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D0IML7/entry. Accessed August 21, 2023.
- 58. A0A286ZXV9 · A0A286ZXV9_PIG (Collagen type IV alpha 4 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A286ZXV9/entry. Accessed August 21, 2023.
- FIS021 · FIS021_PIG (Collagen type V alpha 1 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/FIS021/entry. Accessed August 21, 2023.
 A0A8D0XNT6 · A0A8D0XNT6_PIG (Collagen type V alpha 2 chain). UniProt. Re-
- trieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D0XNT6/entry. Accessed August 21, 2023.
- F1S3G7 · F1S3G7_PIG (Collagen type V alpha 3 chain). UniProt. Retrieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/F1S3G7/entry. Accessed August 21, 2023.
 A0A8D0XY85 · A0A8D0XY85_PIG (Collagen type VI alpha 3 chain). UniProt. Re-
- trieved from https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D0XY85/entry. Accessed August 21, 2023.
- 63. Fedulova, L., Vasilevskaya, E., Tikhonova, O., Kazieva, L., Tolmacheva, G., Makarenko, A. (2022). Proteomic markers in the muscles and brain of pigs recovered from hemorrhagic stroke. Genes, 13(12), Article 2204. https://doi.org/10.3390/ genes13122204
- 64. Zgoda, V. G., Moshkovskii, S. A., Ponomarenko, E. A., Andreewski, T. V., Kopylov, A. T., Tikhonova, O. V. et al. (2009). Proteomics of mouse liver microsomes: Performance of different protein separation workflows for LC-MS/MS. Proteomics, 9(16), 4102-4105. https://doi.org/10.1002/pmic.200900050

- 65. Chernukha, I. M., Fedulova, L. V., Kotenkova, E. A., Shishkin, S. S., Kovalyov, L. I. (2016). The influence of autolysis on the protein-peptide profile of Bos taurus and Sus scrofa heart and aorta tissues. Theory and Practice of Meat Processing, 1(2), 4-9. https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-2-4-9 (In Russian)
- (i) Russian)
 66. Shimizu, M., Hayashi, T., Saitoh, Y., Ohta, K., Itoh, H. (1990). Postmortem Autol-ysis in the Pancreas: Multivariate statistical study. The influence of clinicopath-ological conditions. *Pancreas*, 5(1), 91–94. https://doi.org/10.1097/00006676-199001000-00013
- 67. Siriwardana, R. C., Deen, K. I., Hevawesenthi, J. (2010). Postmortem sampling of the pancreas for histological examination: What is the optimum cut-off time? JOP: Journal of the Pancreas, 11(1), 87–88.
- Granlund, L., Hedin, A., Wahlhütter, M., Seiron, P., Korsgren, O., Skog, O. et al. (2021). Histological and transcriptional characterization of the pancreatic aci-nar tissue in type 1 diabetes. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 9(1), Article e002076. https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2020-002076
 Gill, J. R. (2016). Pancreatitis: A Forensic Perspective. *Academic Forensic Pathol-*
- ogy, 6(2), 237-248. https://doi.org/10.23907/2016.025

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Полищук Екатерина Константиновна — младший научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных ве- ществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7–495–676–95–11 (доб. 129) E-mail: e.politchuk@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2719-9649	Ekaterina K. Polishchuk, Junior Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gor- batov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7–495–676–95–11 (129) E-mail: e.politchuk@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2719-9649
Арюзина Марина Александровна — старший лаборант, Эксперимен- тальная клиника-лаборатория биологически активных веществ живот- ного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (доб. 128) E-mail: m.aryuzina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6886-496X	Marina A. Aryzina, Senior Laboratory Assistant, Experimental Clinic-Lab- oratory of Biologically Active Substances of Animal Origin, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (128) E-mail: m.aryuzina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6886-496X
Спирина Мария Евгеньевна — старший лаборант, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного проис- хождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горба- това 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 (доб. 207) E-mail: m.spirina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4544-4433	Maria E. Spirina, Senior Laboratory Assistant, Experimental Clinic-Labora- tory of Biologically Active Substances of Animal Origin, V. M. Gorbatov Fed- eral Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7–495–676–95–11 (207) E-mail: m.spirina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4544-4433
Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, стар- ший научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория би- ологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7–495–676–92–11 (доб. 129) E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1864-8115 * автор для контактов	Elena A. Kotenkova, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Experimental Clinic — Research Laboratory of Biologically Active Substances of an Animal Origin, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7–495–676–95–11 (129) E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1864-8115 * corresponding author
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.