

ЭКСПРЕССИОННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПУТЕЙ НЕСОПРЯЖЕННОГО И РАЗОБЩЕННОГО ДЫХАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ТОМАТА

Е. В. Мальцева, А. С. Шацких, А. Т. Епринцев, В. Н. Попов

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 26.06.10 г.

Аннотация. С помощью ПЦР анализа в реальном времени исследована экспрессионная регуляция генов альтернативных путей дыхания в культуре томата *in vivo*. Показано, что увеличение транскрипционной активности данных генов наблюдается на свету в условиях активно протекающих процессов фотосинтеза. Использование культуры ткани томата *in vitro* позволило установить, что экспрессия генов, кодирующих белки несопряженного и разобщенного дыхания, наблюдается в условиях повышенного содержания активных форм кислорода в среде, что связано с их ролью в антиоксидантной защите клеток.

Ключевые слова: экспрессия генов, альтернативные пути дыхания, активные формы кислорода.

Abstract. Respiratory regulation of alternative respiration genes pathways in tomato culture *in vivo* was investigated by real-time PCR. It has been shown an increase of transcription activity of these genes. At the same time active photosynthetic processes were detected. Gene expression of proteins encoding noncoupled and uncoupled respiration pathways takes place in the presence of high concentrations of reactive oxygen species. This is probably due to the important role of these proteins in antioxidant protection of cells.

Keywords: gene expression, alternative respiratory pathways, reactive oxygen species.

ВВЕДЕНИЕ

Характерной особенностью организмов с аэробным типом метаболизма выступает наличие окислительного стресса в клетках. Причина данного процесса заключается в возникновении дисбаланса между уровнем кислорода в клетке и потребностью в нем для нормального протекания метаболических реакций. Поскольку растительные организмы не только потребляют кислород, но и образуют его в ходе фотосинтеза, процесс поддержания внутриклеточной концентрации кислорода на низком уровне является для них особенно важным [1]. У растений, наряду с реакциями фотосинтеза, важную роль в энергетике клетки играет окислительное фосфорилирование, осуществляемое за счет работы митохондриальной электрон-транспортной цепи. Конечным акцептором электронов при этом выступает кислород. При протекании паразитных реакций одноэлектронного восстановления кислорода в клетке постоянно образуются активные формы кислорода, способные вступать в реакции неспецифического окисления любой биомолекулы, включая и ДНК [2].

В этой связи интересно отметить, что растения обладают сложной системой путей несопряженно-

го транспорта электронов, обходящих генераторы протонов электрон-транспортной цепи. Так, для митохондрий высших растений было показано, что окисление НАДН осуществляется помимо комплекса I ЭТЦ системой несопряженных НАДН-дегидрогеназ, локализованных на внутренней и внешней стороне внутренней мембраны митохондрий [3], а цианид-резистентная оксидаза (альтернативная оксидаза) — одна из наиболее хорошо изученных систем несопряженного дыхания в растениях. Сродство альтернативной оксидазы к кислороду значительно ниже, чем у цитохромоксидазы [4] и, по-видимому, альтернативный транспорт электронов в растительных митохондриях активируется, когда концентрация кислорода становится выше оптимальной для протекания энергозапасующих процессов.

Совокупность описанных выше молекулярных механизмов носит название свободного окисления [5]. Существование различных систем, обеспечивающих не сопряженное с запасанием энергии свободное окисление субстратов, позволяет митохондриям эффективно регулировать внутриклеточную концентрацию кислорода.

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение изменения активности ряда ферментов окислительного метаболизма, а также характера экспрессионной регуляции генов, коди-

© Мальцева Е. В., Шацких А. С., Епринцев А. Т., Попов В. Н., 2012

рующих белки разобщенного и несопряженного дыхания, в условиях окислительного стресса в культуре ткани томата *in vitro* и *in vivo*.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объекта исследования использовали зеленые листья томата (*Lycopersicon esculentum*) *in vivo*, выращенные в почве по стандартной методике при 12 часовом световом режиме и каллусную культуру ткани томата *in vitro*, полученную на среде Мурасиге и Скуга с добавлением гормонов БАП и НУК в концентрации 2 мг/л [6].

Модель окислительного стресса в культуре ткани создавали добавлением в среду культивирования H_2O_2 в концентрации 0.1 мМ и 10 мМ, а также 5 мкМ, 15 мкМ и 25 мкМ антимицина А (АА).

Определение активности АГ (КФ 4.2.1.3) определяли по увеличению оптической плотности при 240 нм в колориметрической среде, содержащей 100 мМ трис-НСl-буфер (рН 8.0) и 50 мМ цитрат Na.

Активность МДГ (КФ 1.1.1.37) определяли при 340 нм по скорости расходования НАДН в среде спектрофотометрирования следующего состава: 100 мМ трис-НСl-буфер (рН 8.0), 1 мМ оксалоацетат, 0.2 мМ НАДН, 10 мМ $MgCl_2$ [7].

Активность внешней НАД(Ф)Н-дегидрогеназы определяли по скорости расходования НАДН при 340 нм в среде калориметрирования, содержащей 20 мМ трис-НСl-буфер (рН 7.4), 0.5 мМ $MgCl_2$, 0.12 мМ НАДН, 1 мМ $CaCl_2$ [8].

Определение активности каталазы (КФ 1.11.1.6) осуществляли в 0.1 М фосфатном буфере (рН 6.0) по снижению оптической плотности при 240 нм. Реакцию инициировали добавлением в кювету 3 % перекиси водорода [9].

Определение активности пероксидазы (КФ 1.11.1.7) осуществляли с использованием бензидинового реактива при 530 нм по увеличению оптической плотности [10].

Определение активности СОД (КФ 1.15.1.1) проводили при 540 нм по увеличению оптической плотности в 0.1 М калий-фосфатном буфере, рН 7.8 с добавлением 0.3 мМ ЭДТА, 0.2 мМ НСТ, 0.09 мМ ФМС и 1.6 мМ НАДН [11].

За единицу ферментативной активности принимали количество фермента, образующего 1 мкМ продукта за 1 мин при 25 °С.

Определение общего количества белка проводили по методу Лоури [12].

Количественный ПЦР-анализ проводили с применением флуоресцентного красителя SYBR Green

I на приборе Chromo 4 (Biorad, США). В качестве нормализатора использовали ген фактора элонгации *ef-1 α* [13]. Последовательности праймеров для гена *ef-1 α* : прямой 5'-ACAAGATTGGTGGTATTGGAAC-3' и обратный 5'-GGTGCATCTGGTG-CATCTCAACAGACTTS-3'. Полимеразную цепную реакцию [14,15] проводили с генспецифичными вырожденными праймерами с помощью набора реактивов Silex (Хеликон, Россия). Подбор праймеров проводили на основе поиска гомологичных последовательностей в геномах *Lycopersicon esculentum* L., *Arabidopsis thaliana* L., *Solanum tuberosum* L., *Triticum aestivum* L., используя базу данных NCBI (США, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). С целью выявления наиболее консервативных участков выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы AliBee — Multiple alignmentRelease2.0 (http://www.genebee.msu.su/services/malign_reduced.html). Праймеры для гена *aox1a*: прямой — 5'-ATGCAYYTSATGACYTTTCATGGA-3'; обратный- 5'-MRAARTARGCGTTGAAGAA GAC-3'. Праймеры для гена *sod3-1* были следующие: прямой 5'-MTCWGGMTGGGTGTGGCT-3'; обратный 5'-CTYACRTTYTTGTACTGCARGT -3'. Праймеры для гена *ndb1* следующие: прямой 5'-ATTGCCAYTTTCTSAAGGAAGT-3'; обратный 5'-GTCATGTAGCTCAGCWGCAA-3'. Праймеры для гена *ndal*: прямой 5'-TTAGGTCTGTTGCTGA ACC-3'; обратный 5'-TCCATGGCTTCAATGTG STA-3'. Праймеры для гена *pump*: прямой 5'-CTY TKTGGACTGKYCTTG-3'; обратный: 5'-AATCK CCCATCATCTTGAYT -3'. Праймеры для гена *ant*: прямой 5'-СТАYTGGAAGTGGTTTGCTG-3'; обратный 5'-CATTGAACTGCCTYTCRCCT-3'. Праймеры для гена *nadp-red*: прямой 5'-ACTGGTG ATGATGCACCTG-3', обратный 5'-AYAATCK AAGCTTGTG AGGCTT-3'. Параметры амплификации: предварительная денатурация при 95 °С в течение 5 мин, затем 45 циклов: 95 °С — 40 с, 61 °С — 40 с, 72 °С — 40 с, 72 °С — 15 с.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе изучения органоспецифической экспрессии генов несопряженного и разобщенного дыхания показано, что максимальный уровень генспецифической мРНК наблюдается в листьях томата (рис. 1). Известно, что ткани листа характеризуются наибольшей фотосинтетической активностью, и тот факт, что уровень экспрессии генов максимален именно в листьях, свидетельствует о том, что в условиях активно протекающих процессов фотосинтеза значение функционирования

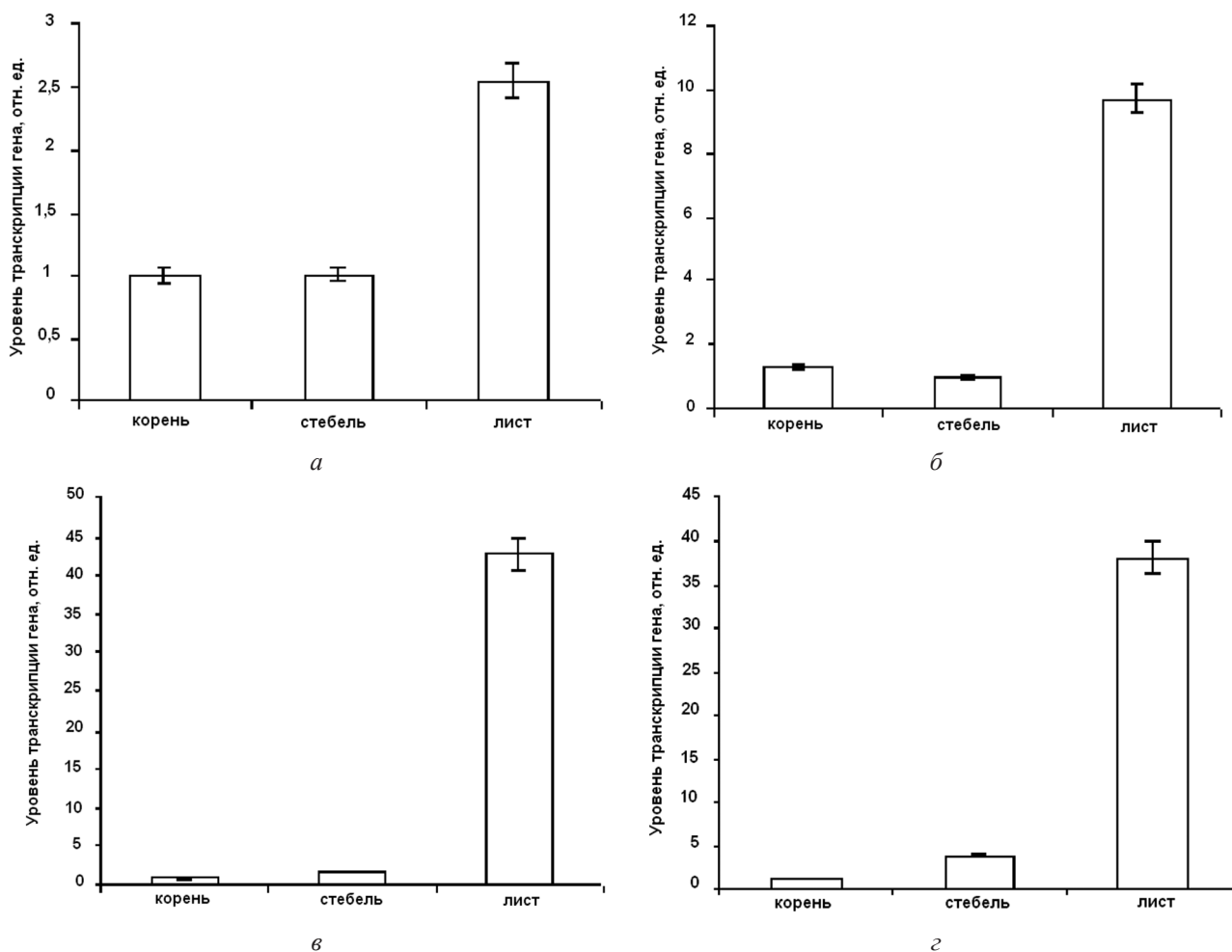


Рис. 1. Уровень органоспецифической экспрессии генов томата: а — ген *nda1*; б — ген *ndb1*; в — ген *aox1a*; г — ген *pntp*

внешней ротенон-нечувствительной НАД(Ф)Н-дегидрогеназы возрастает. Важность ее работы связана с необходимостью реокислять НАД(Ф)Н, образующийся в процессе фотосинтеза, тем самым обеспечивая нормальную работу хлоропластной ЭТЦ. При этом окисление НАД(Ф)Н, не сопряженное с транслокацией протонов, снижает вероятность возникновения ситуации перевосстановленности редокс-компонентов митохондриальной ЭТЦ, что, в свою очередь, снижает вероятность генерации активных форм кислорода.

Особый интерес представляет изучение активности ферментов в первые часы экспозиции растений при переходе от темноты к свету. Проведенные исследования показали, что в течение первых шести часов после переноса растений на свет из темноты метаболическая активность МДГ, АГ, НАДН-ДГ, каталазы и пероксидазы остается на относительно постоянном уровне по сравнению с контролем. Индукция малатдегидрогеназной актив-

ности наблюдается после 12 часов экспозиции растений на свету. Известно, что активация работы фотосинтетической ЭТЦ при переносе растений на свет требует увеличения скорости работы цикла Кальвина [16]. Вероятно, в этих условиях в клетке происходит активация ЦТК, что обеспечивает метаболизацию запасных органических кислот, обеспечивая субстратами анаболические процессы. Избыточное количество АФК, образующихся в ходе фотосинтетических реакций к 12 часам экспозиции растений на свету, может приводить к инаktivированию метаболической активности ферментов, в том числе и антиоксидантой защиты. В то же время, увеличение ферментативной активности НАД(Ф)Н-дегидрогеназы свидетельствует о возможном участии данной ферментной системы в нивелировании АФК, образующихся в ЭТЦ на свету (табл. 1).

В ходе исследования световой регуляции экспрессии генов *nda1* и *nadp-red* было выявлено, что

Таблица 1

Изменение активности ферментов (Е/мг.б.) в зеленых листьях томата при смене светового режима,
 $n = 3, p \leq 0.05$

Ферменты \ Экспозиция на свету	0 часов	1 час	6 часов	12 часов	1 час темноты
Аконитатгидратаза	0.32±0.01	0.35±0.01	0.15±0.00	0.16±0.00	0.13±0.00
Малатдегидрогеназа	0.43±0.01	0.19±0.01	0.08±0.00	0.67±0.02	0.76±0.02
НАД(Ф)Н-дегидрогеназа	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.02±0.00	0.08±0.00
Каталаза	8.50±0.26	6.00±0.18	8.30±0.25	1.20±0.04	1.64±0.05
Пероксидаза	1.52±0.05	3.4±0.10	1.64±0.05	0.59±0.02	0.65±0.02
Супероксиддисмутаза	5.40±0.16	7.59±0.23	5.20±0.16	1.70±0.05	0.09±0.00

при переносе растений из темноты на свет в первый час наблюдается быстрое накопление транскрипта исследуемых генов в клетках. При этом количество продуктов амплификации увеличивается более чем в 20 раз по сравнению с контролем. К 12 часам экспозиции на свету наблюдается быстрое снижение уровня экспрессии *nda1* и *nadp-red*. Полученные данные позволяют предположить наличие механизмов экспрессионной регуляции альтернативных дыхательных путей, обеспечивающих корреляцию их активности с интенсивностью фотосинтетических реакций, что позволяет оптимизировать протекание НАД-зависимых процессов в цитоплазме, хлоропластах и митохондриях, а также обеспечивает нормальное функционирование митохондриальной и цитоплазматической ЭТЦ в условиях избытка восстановительных эквивалентов. Аналогичная картина экспрессионной регуляции при смене светового режима наблюдается для гена *sod3-1*. Исследование динамики экспрессии гена *ant* в течение светового дня показало, что уровень транскрипта изучаемого гена увеличивается в 5 раз относительно контроля к 1 часу экспозиции и в 8 раз к 6 часам экспозиции. К 12 часам световой инкубации и в темноте наблюдается уменьшение количества мРНК данного гена (рис. 2).

Таким образом, полученная картина динамики экспрессии изучаемых генов в условиях смены светового режима позволяет предположить, что имеет место экспрессионная корреляция активности альтернативных дыхательных путей митохондрий с интенсивностью процессов фотосинтеза и активностью антиоксидантной системы клетки.

В связи с тем, что культура недифференцированных клеток *in vitro* оказывается наиболее чувствительной к активным формам кислорода, использование каллусной культуры томата как объекта исследования открывает широкие возможности для изучения вопроса окислительного стресса. Известно, что в отсутствии повреждающих факторов концентрация активных форм кислорода остается на относительно постоянном уровне. Добавление H_2O_2 в среду культивирования растений стимулирует развитие окислительного стресса в клетках. В качестве маркерного фермента, по которому контролировалось поступление H_2O_2 из среды инкубации в ткани томата, использовали активность аконитатгидратазы, содержащей ион Fe^{2+} в активном центре, и легко инактивируемой АФК [17]. В наших опытах показано, что падение активности аконитазы наблюдается уже при 0.1 мМ H_2O_2 , а полное инактивирование фермента происходит в присутствии 10 мМ концентрации H_2O_2 (табл. 2).

По литературным данным АФК могут принимать участие в передаче сигналов, приводящих к активации ферментов антиоксидантной защиты и экспрессии их генов [18]. Так, результаты ПЦР анализа в реальном времени показали, что воздействие перекиси водорода в концентрации 0.1 мМ и 10 мМ на каллусную культуру томата в течение 5 часов инкубации приводит к увеличению уровня транскрипта гена *sod3-1* более чем в три раза по сравнению с контролем. Количественная оценка экспрессии генов несопряженного дыхания в культуре ткани *in vitro* позволила установить, что H_2O_2 в концентрации 10 мМ увеличивает относительный уровень транскрипции генов *nda1* и *aox1a* в восемь

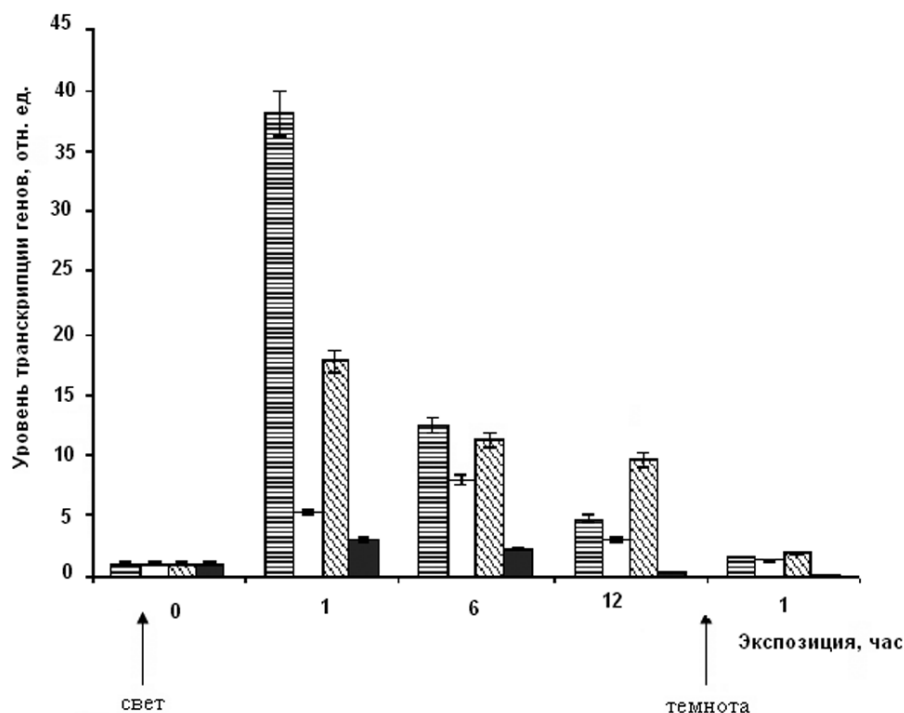


Рис. 2. Динамика экспрессии генов в зеленых листьях томата при смене светового режима: ▨ — ген *nda1*; □ — ген *ant*; ▩ — ген *nadp-red*; ■ — ген *sod3-1*

Таблица 2
Изменение ферментативной активности аконитатгидратазы в культуре ткани томата в присутствии H_2O_2 и антимицина А после 5 часов инкубации

Концентрация H_2O_2 , мМ	Активность АГ, Е/мг.б.	Концентрация антимицина А, мкМ	Активность АГ, Е/мг.б.
0	0.310±0.009	0	0.150±0.005
0,1	0.090±0.002	5	0.060±0.002
10	0.030±0.001	15	0.040±0.001
		25	0.010±0.001

раз по сравнению с контролем. Уровень экспрессии гена *nda1* остается на относительно неизменном уровне (табл. 3).

Воздействие 0.1 мМ концентрации H_2O_2 на ткани томата вызывает резкое увеличение транскрипционной активности генов разобщенного дыхания. Так, уровень генспецифической мРНК генов *rimp* и *ant* возрастает более чем в 3 раза в присутствии 0.1 мМ концентрации пероксида водорода, а в присутствии 10 мМ H_2O_2 в 30 и 12 раз соответственно по сравнению с контролем (табл. 3).

Аналогичная картина наблюдается при добавлении в среду культивирования каллусов антимицина А, который блокирует ЭТЦ митохондрий на

уровне комплекса III. В связи с этим в клетках изменяется редокс-состояние ЭТЦ, растет время жизни убисемихинона и как следствие накапливаются АФК. Результаты ПЦР анализа показали, что присутствие 5 мкМ концентрации АА в среде приводит к увеличению количества транскриптов гена *sod3-1* в четыре раза по сравнению с контролем. Аналогичным образом воздействие незначительных концентраций АА (5 мкМ) также приводит к увеличению экспрессии генов несопряженного и разобщенного дыхания. Однако более высокие концентрации (15 мкМ и 25 мкМ) данного ингибитора ЭТЦ приводят к снижению уровня мРНК изучаемых генов (табл. 4).

Таблица 3

Экспрессионная регуляция генов (отн.ед.) пероксидом водорода различной концентрации в культуре томата *in vitro*, $n = 3$, $p \leq 0.05$

Гены [H ₂ O ₂], мМ	nda1	ndb1	aox1α	pump	ant	sod3-1
0	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1
0,1	1.0±0.1	1.0±0.1	4.9±0.2	3.4±0.1	3.7±0.1	3.9±0.1
10	8.3±0.3	1.2±0.1	8.8±0.3	30.3±0.9	12.7±0.4	3.6±0.1

Таблица 4

Экспрессионная регуляция генов (отн.ед.) антимицином А различной концентрации в культуре томата *in vitro*, $n = 3$, $p \leq 0.05$

Гены [АА], мкМ	nda1	ndb1	aox1α	pump	ant	sod3-1
0	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1
5	0.6±0.1	1.0±0.1	3.8±0.1	4.8±0.1	9.1±0.3	4.4±0.1
15	0.4±0.1	0.5±0.1	1.5±0.1	8.9±0.2	1.0±0.1	0.2±0.1
25	0.4±0.1	0.5±0.1	0.2±0.1	0.4±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обнаруженная нами корреляция экспрессии генов альтернативных дыхательных путей и антиоксидантной системы клетки показывает, что в условиях активно протекающих фотосинтетических процессов избыточная генерация АФК предотвращается за счет одновременного использования нескольких механизмов, одним из которых является свободное окисление дыхательных субстратов. Известно, что функционирование альтернативной оксидазы снижает вероятность генерации в дыхательной цепи супероксидрадикала [19]. Вместе с тем, получены убедительные доказательства того, что H₂O₂ является одной из сигнальных молекул, стимулирующих экспрессию гена *aox1α* [20]. Другим ферментом, обеспечивающим несопряженное окисление дыхательных субстратов является ротеноннечувствительная НАД(Ф)Н-дегидрогеназа. Причем, ранее установлено, что механизм термогенеза у растений обусловлен совместной экспрессией белков несопряженной дыхательной цепи митохондрий [21]. Проведенные нами исследования индукции экспрессии генов альтернативной оксидазы и НАД(Ф)Н-дегидрогеназы при воздействии пероксида водо-

рода и АА подтвердили участие данных ферментов в антиоксидантной системе защиты растений в условиях окислительного стресса. Кроме того, исследование экспрессионной регуляции генов *pump* и *ant* при воздействии H₂O₂ и АА позволили установить участие белков разобщенного дыхания в уменьшении образования АФК митохондриями. Эти факты могут быть объяснены тем, что разобщение окисления и фосфорилирования усиливает митохондриальное дыхание, уменьшает время жизни семихинона и, следовательно, вероятность образования супероксида за счет передачи электронов от семихинона на кислород [22].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скулачев В. П. Альтернативные функции клеточного дыхания / В. П. Скулачев // Соросовский образовательный журнал. — 1998. — № 8. — С. 2—7.
2. Скулачев В. П. Снижение внутриклеточной концентрации O₂ как особая функция дыхательных систем клетки / В. П. Скулачев // Биохимия. — 1994. — № 59. — С. 1910—1912.
3. Moller I. M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species / I. M. Moller // Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. — 2001. — Vol. 52. — P. 561—591.

4. Millenaar F. F. The alternative oxidase: *in vivo* regulation and function / F. F. Millenaar, H. Lambers // *Plant Biol.* — 2003. — Vol. 5. — P. 2—15.
5. Попов В. Н. Possible role of free oxidation processes in the regulation of reactive oxygen species production in plant mitochondria / V. N. Popov // *Biochem. Soc. Trans.* — 2003. — Vol. 31. — P. 1316—1317.
6. Цыренов В. Ж. Основы биотехнологии: Культивирование изолированных клеток и тканей растений / В. Ж. Цыренов. — Улан-Удэ: ВСГТУ, 2003. — 58 с.
7. Епринцев А. Т. Функционирование малатдегидрогеназной системы в мезофилле и обкладке листьев кукурузы в условиях солевого стресса / А. Т. Епринцев, О. С. Федорина // *Физиология растений.* — 2007. — Т. 54. — №6. — С. 820—827.
8. Фоменко О. Ю. Распространение путей свободного окисления дыхательных субстратов и регуляция их экспрессии в митохондриях высших растений : дис. ...к.б.н. : 03.00.04 / О. Ю. Фоменко. — Воронеж, 2007. — 149 с.
9. Землянухин А. А. Большой практикум по физиологии и биохимии растений / А. А. Землянухин, Л. А. Землянухин. — Воронеж: ВГУ, 1996. — 168 с.
10. Активность и изоферментный спектр пероксидазы клонов карельской березы, размножаемых *in vitro* / О. А. Землянухина [и др.] // *Межрегиональный сборник научных трудов.* — 2003. — №5. — С. 46—52.
11. Чевари С. Спектрофотометрический метод определения супероксиддисмутазы / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // *Лабораторное дело.* — 1981. — № 11. — С. 678—680.
12. Protein measurement with folin phenol reagent / O. H. Lowry [et al.] // *Biol. chem.* — 1951. — Vol. 193. — № 1. — P. 265—275.
13. Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress / N. Nicot [et al.] // *Experimental Botany.* — 2005. — Vol. 56. — № 421. — P. 2907—2914.
14. Mullis K. B. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalyzed chain reaction / K. B. Mullis, F. A. Faloon // *Methods Enzymol.* — 1987. — № 155. — P. 335—350.
15. Епринцев А. Т. Полимеразная цепная реакция как универсальный метод диагностики и идентификации генов / А. Т. Епринцев, Е. А. Москалев, В. Н. Попов // *Системный анализ и управление в биомедицинских системах.* — 2001. — № 1. — С. 9—14.
16. Cooper T. G. Mitochondria and glyoxysomes from castor bean endosperm enzyme constituents and catalytic capacity / T. G. Cooper, H. J. Beevers // *J. Biol. Chem.* — 1969. — Vol. 244. — P. 3507—3513.
17. Inactivation of aconitase and oxoglutarate dehydrogenase in skeletal muscle *in vitro* by superoxide anions and/or nitric oxide / U. Andersson [et al.] // *Biochem. Biophys. Res.* — 1998. — Vol. 249. — P. 512—516.
18. The tomato gene for the chloroplastic Cu,Zn-superoxide dismutase: regulation of expression imposed in transgenic tobacco plants by a short promoter / N. Kardish [et al.] // *Plant Mol. Biol.* — 1994. — Vol. 25. — P. 887—897.
19. Regulation of thermogenesis in flowering Araceae: the role of the alternative oxidase / A. M. Wagner [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* — 2008. — Vol. 1777. — P. 993—1000.
20. Wagner A. M. A role for active oxygen species as second messengers in the induction of alternative oxidase gene expression in *Petunia hybrida* cells / A. M. Wagner // *FEBS Lett.* — 1995. — Vol. 368. — P. 339—342.
21. Берцова Ю. В. Окисление NADH митохондрии термогенного растения *Arum orientale* / Ю. В. Берцова, В. Н. Попов, А. В. Богачев // *Биохимия.* — 2004. — Т. 69. — № 5. — С. 712—718.
22. Skulachev V. P. Why are Mitochondria Involved in Apoptosis? / V. P. Skulachev // *FEBS Lett.* — 1996. — Vol. 397. — P. 7—10.

Мальцева Елена Витальевна — аспирант кафедры биохимии и физиологии клетки Воронежского государственного университета; тел.: (473) 220-8877; e-mail: elena-poluyektova@yandex.ru

Шацких Алексей Сергеевич — магистрант кафедры биохимии и физиологии клетки Воронежского государственного университета; тел.: (473) 220-8877; e-mail: shackih@narod.ru

Епринцев Александр Трофимович — зав. кафедрой биохимии и физиологии клетки Воронежского государственного университета, д.б.н., профессор; тел.: (473) 220-8877; e-mail: bc366@bio.vsu.ru

Попов Василий Николаевич — зав. кафедрой генетики, цитологии и биоинженерии Воронежского государственного университета, д.б.н., профессор; тел.: (473) 220-8876; e-mail: pvn@bio.vsu.ru

Maltseva Elena W. — post-graduate student of the department of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh State University; tel.: (473) 220-8877; e-mail: elena-poluyektova@yandex.ru

Shatsky Aleksei S. — master student of the department of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh State University; tel.: (473) 220-8877; e-mail: shackih@narod.ru

Eprintsev Aleksandr T. — head of the department of Cell Biochemistry and Physiology, Voronezh State University, doctor of biological science, professor; tel.: (473) 220-8877; e-mail: bc366@bio.vsu.ru

Popov Vasily N. — head of the department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, doctor of biological science, professor; tel.: (473) 220-8876; e-mail: pvn@bio.vsu.ru