УДК 627.15.57

МНОЖЕСТВЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОРМЫ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МИКРОЦЕНОЗОВ МОДЕЛЬНЫХ И ПРИРОДНЫХ ГИДРОЭКОСИСТЕМ

Шаталаев И.Ф., Расцветова Н.В., Быкова Г.С., Воронин А.В., Редкокашин Д.Е.

ФГОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Самара, e-mail: shatalaev@list.ru

Проведен анализ структурных особенностей, степени гетерогенности и динамики активности глутаматдегидрогеназы (ГДГ) микроценоза активного ила модельных и природных гидроэкосистем. Динамика соотношений активностей множественных молекулярных форм ГДГ в моделях и на действующих сооружениях биологической очистки зависит от гидрохимического режима: установлено предпочтение реакции окислительного дезаминирования глутамата в условиях относительного анаэробиоза и, наоборот, преобладание реакции восстановительного аминирования 2–оксоглутарата при избытке кислорода. Залповые сбросы сточных вод в зависимости от содержания высокотоксичных соединений приводят к полному или частичному блокированию фермента. Аэробная стабилизация подвергнутого стрессу активного ила сопровождается индукцией и выявлением низкомолекулярных форм ГДГ, образованием модифицированных высокомолекулярных форм фермента. В образцах грунтов Саратовского и Волгоградского водохранилищ максимальная гетерогенность и активность ГДГ установлена в районах сброса очищенных сточных вод городов и на протяжении 20–30 км ниже по течению. В образцах грунтов малых рек, принимающих условно чистые сточные воды промышленных производств, выявлено динамическое равновесие между реакциями окислительного дезаминирования глутамата и восстановительного аминирования 2–оксоглутарата. Увеличение частоты встречаемости ГДГ-5 свидетельствует о некотором преобладании анаэробиоза, что является следствием загрязнения сточными водами.

Ключевые слова: глутаматдегидрогеназа (ГДГ), микроценозы, активный ил, гидроэкосистемы

MOLECULAR FORMS OF GLUTAMATE DEHYDROGENASE IN ACTIVE SILT DURING BIOLOGICAL SEWAGE TREATMENT

Shatalaev I.F., Rastsvetova N.V., Bykova G.S., Voronin A.V., Redkokashin D.E.

Samara State Medical University, Samara, e-mail: shatalaev@list.ru

The analysis of the structural features, the degree of heterogeneity and the dynamics of the activity of glutamate dehydrogenase (GDH) microcenosis activated sludge model and natural hydro. Dynamics ratio of active molecular form GDG models and existing biological treatment plants depends on the degree of relative aerobiosis and anaerobic in hydroecosystems. Modeling volley discharges of highly toxic waste water showed complete or partial blockage of the enzyme. Resuscitation and stabilization of the aerobic activated sludge subjected to stress is accompanied by the induction and detection of low molecular weight forms of GDH and the formation of high molecular weight modified forms of the enzyme.

Keyword: glutamate dehydrogenase (GDH), microcenosis, active silt, hydroecosystems

Одним из основных направлений исследований в экологии является изучение пределов возможных изменений гидроэкосистем без нанесения существенного экологического ущерба. Особое положение занимает концепция устойчивого развития экосистем в измененных человеком условиях, способность экосистемы противостоять антропогенным факторам без вымирания или деградации ее составляющих. Все шире используется понятие гомеостаза применительно к популяциям, сообществам и экосистемам, достигающим определенной стабильности благодаря механизмам саморегуляции. При этом в известных пределах варьирует количество видов, биомасса, чистая продукция, плотность популяций, однако в целом экосистема остается неизменной во времени, устойчивой к повреждающим факторам и характеризуется стабильностью направления изменений [2].

Стабильность гидроэкосистем обеспечивается видовым разнообразием входящих в них сообществ гидробионтов [1].Однако многими исследованиями экспериментально доказано, что именно в этот период развития гидроэкосистем увеличения видового разнообразия зачастую не происходит, отмечается выравненность слагающих его видов и их стратификация. Особенно это характерно для замкнутых гидроэкосистем.

Многолетние наблюдения за природными и модельными гидроэкосистемами показали, что после кратковременного мощного антропогенного воздействия, приводящего к метаболическому коллапсу, микроценозы гидроэкосистем в течение 48–72 часов по многим параметрам достигали исходного функционального состояния. Увеличения видового разнообразия при этом не происходило.

Полученные данные указывали на наличие иных путей достижения устойчивости.

Первый – это возможное увеличение разнообразия эндо- и экзометаболитов, и как следствие, второй – структурная реорганизация ключевых олигомерных ферментов метаболизма микроценозов гидроэкосистем. Первое предположение нашло экспериментальное подтверждение, показано существование прямой зависимости между концентрацией внеклеточных органических соединений и темпом прироста биомассы микросообществ гидроэкосистем. Второе предположение остается малоизученным и открытым.

В связи с этим становятся значимыми исследования, направленные на установление структурных особенностей ключевых ферментов метаболизма микросообществ гидроэкосистем по фазам развития, их роли в стабилизации и реанимации последних при техногенных воздействиях. Одним из таких ферментов является глутаматдегидрогеназа.

Глутаматдегидрогеназа (L-глутамат: NAD-оксидоредуктаза дезаминирующая, 1.4.1.2., ГДГ) катализирует обратимое превращение L-глутамата в 2–оксоглутарат:

L-глутамат + H_20 + NAD ↔ 2–оксоглутарат + NH_3 + NADH

Обратимость реакции имеет фундаментальное значение в синтезе аминокислот, обмене белков и углеводов, включении промежуточных продуктов метаболизма в цикл трикарбоновых кислот.

Основная физиологическая роль NAD-зависимой ГДГ микроорганизмов по многим данным катаболитная, тем не менее, у некоторых бактерий обнаружен предпочтительный катализ реакции восстановительного аминирования 2–оксоглутарата до глутаминовой кислоты, в связи с чем обсуждается роль NAD- зависимой ГДГ в ассимиляции аммонийного азота [5].

NAD- и NADP-зависимые ГДГ обнаружены в цитоплазме, в митохондриях, в мембранах клеток высших и низших организмов [3]. В последних работах получены убедительные доказательства того, что основная активность ГДГ (65–80 %) ассоциирована с цитоплазматической мембраной и тилакоидными мембранами.

ГДГ – один из ферментов, ингибируемых незначительными концентрациями ионов тяжелых металлов (цинк, кадмий, ртуть), что значимо для биотестирования токсичности промышленных загрязнений.

Ключевое положение ГДГ в процессах метаболизма определяет важность исследования состава, степени гетерогенности и динамики активности ее множественных молекулярных форм (ММФ) в ценозах модельных и природных гидроэкосистем, тем более что биосинтетические пути глутамата предположительно одинаковы для всех живых систем, в том числе и для микробных сообществ гидроэкосистем.

Цель работы. Определить структурные особенности, динамику активности и степень гетерогенности одного из ключевых ферментов метаболизма микроценозов модельных и природных гидроэкосистем – глутаматдегидрогеназы.

Материалы и методы исследования

В работе использовали активный ил сооружений биологической очистки сточных вод НПЗ, городской станции аэрации и образцы микроценозов грунтов Саратовского, Волгоградского водохранилищ и малых рек Самарской области.

Получение ферментных образцов, электрофорез, выявление ММФ ГДГ, сканирование и определение относительной активности фермента проводили по известной методике [4]. В состав инкубационной среды для выявления ММФ ГДГ входили водные растворы NAD 1 мг/мл – 40 мл, нитросиний тетразолиевый 1 мг/мл – 30 мл, феназинметасульфат 1 мг/мл – 2 мл, 1 М раствор L-глутамата натрия pH 7,0 – 5 мл, 0,1 М фосфатный буферный раствор pH 7,0 – до 100 мл. Инкубацию проводили 3 ч при температуре 37°С. В местах локализации ММФ фермента развивалось темно-синее окрашивание.

Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 1 представлены данные о структурной организации и динамике относительной активности ММФ ГДГ активного ила сооружений биологической очистки сточных вод НПЗ в две ступени в реально действующих условиях.

На обеих ступенях очистки сточных вод ГДГ ила выявляется в составе пяти ММФ, незначительно отличающихся по относительной электрофоретической подвижности. На входе в первую ступень основная активность локализуется в области ГДГ-5, относительная активность минорных форм варьирует от 10 до 16,5 %. К центру аэротенка отмечается падение активности ГДГ-5 при одновременном увеличении таковой у ГДГ-2, ГДГ-3 и незначительно у ГДГ-4. К выходу из аэротенка первой ступени очистки активность ГДГ-5 продолжает снижаться и становится более чем в 2 раза ниже таковой у входа в аэротенк, а основная активность фермента концентрируется в области ГДГ-2 и ГДГ-3. Совершенно противоположное аэротенку распределение соотношения активности ММФ ГДГ во вторичном отстойнике первой ступени очистки: почти трехкратная активация ГДГ-5 по сравнению с выходом из аэротенка, увеличение активности ГДГ-4 и снижение таковой в 2–3 раза у ГДГ-1, ГДГ-2 и ГДГ-3. В центре аэротенка второй ступени очистки основная актив-

ность фермента локализуется в зонах ГДГ-2, ГДГ-3 и ГДГ-4, активность ГДГ-5 более, чем в 5 раз ниже таковой вторичного отстойника первой ступени и почти в пять раз ниже активности ГДГ-5 вторичного отстойника второй ступени очистки (табл. 1).

основной этап изъятия загрязнителей и их окисление, а соответственно и быстрое улавливание энергии в форме ГТФ и АТФ, происходит именно на этих участках сооружений биологической очистки. Ингибирование ГДГ-5 и увеличение относительной активности минорных форм фермента подтверждает предположения о преобладании реакции восстановительного аминирования над окислительным дезаминированием 2–оксоглутарата в центре аэротенка и на выходе из него. Во вторичных отстойниках преобладает реакция окислительного дезаминирования глутамата и обеспечение клеток ила энергией NADH, что подтверждается активацией основной формы фермента – ГДГ-5. Положительным модулятором ГДГ, по всей вероятности, является ГДФ.

Таблица 1

Относительная активность ММФ ГДГ ила сооружений биологической очистки сточных вод НПЗ

ММФ ГДГ	Относительная активность, изменение в %					
	Первая ступень				Вторая ступень	
	вход в аэротенк	центр аэротенка	выход из аэротенка	вторичный отстойник	центр аэротенка	вторичный отстойник
ГДГ-1	10,0	8,5	8,5	6,0	9,5	3,5
ГДГ-2	16,5	26,5	36,5	8,0	34,5	7,5
ГДГ-3	15,0	19,5	21,0	10,5	23,0	12,5
ГДГ-4	14,0	16,5	14,0	20,5	22,5	28,0
ГДГ-5	44,5	29,0	20,0	55,0	10,5	48,5

Наблюдали следующую динамику общей активности фермента в процессе очистки сточных вод: максимум активности фермента установлен во вторичных отстойниках, некоторое снижение таковой на входе в аэротенки, еще ниже в центре аэротенков и двукратное ингибирование по сравнению с вторичными отстойниками на выходе из аэротенков.

ГДГ – фермент анаэробно-аэробного метаболизма, вероятно, поэтому отмечается высокая активность фермента в отстойниках и на входе в аэротенки, где при регенерации и подаче активного ила в головную часть кислород лимитирован. По мере прохождения биомассы ила в аэрируемый участок аэротенка активность ГДГ снижается. Это одновременно сопровождается значительной перестройкой в соотношении активности основной и минорных форм фермента. не исключена возможность неконкурентного ингибирования ГДГ ила в центре аэротенка и на выходе из него аденилатами, поскольку

Данные о структурной организации и динамике относительной активности ММФ ГДГ активного ила городской станции аэрации (ГСА) в процессе очистки сточных вод представлены в табл. 2. Эта серия экспериментов полностью подтверждает явление снижения активности ГДГ-5 по мере прохождения биомассы ила от регенератора к выходу из аэротенка и, соответственно, активации минорных форм фермента, особенно ГДГ-3, ГДГ-2 и ГДГ-1.

Таблица 2

Относительная активность ММФ ГДГ ила в процессе очистки сточных вод на ГСА

ММФ ГДГ	Относительная активность, изменение в %				
	регенератор	первая секция аэротенка	вторая секция аэротенка	третья секция аэротенка	выход из аэротенка
ГДГ-1	5,0	10,5	12,0	12,5	10,0
ГДГ-2	8,5	15,5	19,5	17,0	17,5
ГДГ-3	12,0	17,5	21,0	20,0	24,5
ГДГ-4	19,0	14,5	14,0	16,5	18,0
ГДГ-5	55,5	42,0	33,5	34,0	30,0

Результаты моделирования залповых сбросов некоторых компонентов сточных вод НПЗ представлены на рис. 1.

СМС «Прогресс» в концентрации 145–150 мг/г ила практически полностью блокировало фермент, причем, отмечены деструктивные явления в составе ММФ, что подтверждается усилением фонового окрашивания фореграмм и некоторым изменением электрофоретической подвижности фракций. Действие алкилфенолята натрия в концентрации до 150 мг/г ила сопровождалось ингибированием активности ГДГ-5 на 70–75 % от исходной, также установлено уменьшение активности минорных форм до 50 % по сравнению с контролем. Залповый сброс модельной сточной воды, содержащей свинца нитрата до 19 мг/г ила приводил к полному блокированию фермента и, как следствие, остановке всех процессов метаболизма, функционально связанных с этим ключевым ферментом. Орто-крезол в концентрации до 120 мг/г ила ингибировал ММФ ГДГ на 40–60 % от контроля. Моделирование залповых сбросов сточных вод производства алкилсалицилатных присадок в соотношении 1:20 (сточная вода : иловая смесь) приводило к инактивации ГДГ-5 на 80–90 % и минорных форм на 60–75 %.

Залповый сброс общезаводских сточных вод, содержащих 120–140 мг/г ила аммонийного азота, полностью блокировал ГДГ-5 и ингибировал минорные формы на 80–90 % от контроля. Следует обратить внимание на последнее, поскольку здесь имеет место субстратное ингибирование, которое указывает на большую чувствительность к таковому основной формы фермента – ГДГ-5. Аэробная стабилизация активного ила, подвергшегося действию залпового сброса общезаводских сточных вод с содержанием аммонийного азота до 140 мг/г ила, привела к следующим результатам: стабилизация в течение 48 часов сопровождалось индукцией и выявлением в низкомолекулярной области фореграмм шести зон с выраженной ГДГ активностью. Кроме того, в области между ГДГ-4 и ГДГ-5 выявлено три дополнительных зоны активности, что отражено на рис. 2.

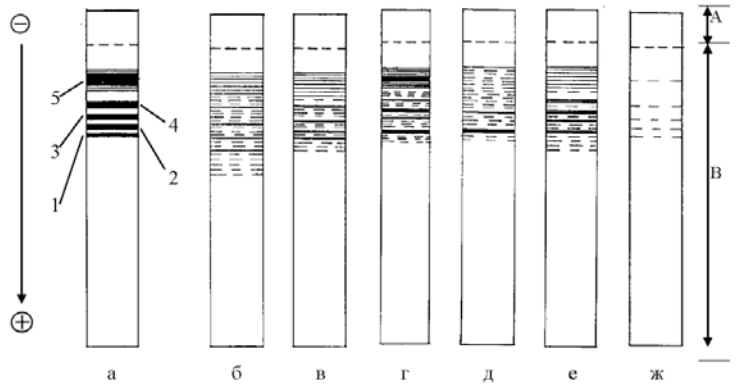

Рис. 1. Спектры ММФ ГДГ активного ила в контроле (а), при действии СМС «Прогресс» (б), алкилфенолята натрия (в), о-крезола (г), общезаводских сточных вод (д), сточных вод производства алкилсалицилатных присадок (е) и свинца нитрата (ж): А – концентрирующий гель; В – разделяющий гель; 1–5 – ММФ глутаматдегидрогеназы

Необходимо отметить, что стабилизация подвергшегося стрессу ила уже в первые 20–30 часов привела к практически полной реактивации всех ММФ фермента. Дальнейшая аэробная стабилизация сопровождалась увеличением числа индуцированных низкомолекулярных форм фермента до семи (рис. 2) и восстановлением структурной организации фермента до исходной. ГДГ выявляется в составе основной формы ГДГ-5 и четырех минорных форм.

Интересны, на наш взгляд, результаты серий экспериментов по исследованию активности ММФ ГДГ в моделях экосистемы активного ила в условиях лимитирования кислородом. Полученные данные указывают на то, что лимитирование кислородом приводит к перераспределению соотношения активности ММФ ГДГ ила: отмечена активация ГДГ-5 при одновременном понижении таковой у минорных форм фермента. Необходимо отметить факт увеличения общей активности фермента в условиях относительного анаэробиоза на 30–50 % от контроля.

Результаты исследований состава и активности ММФ ГДГ микробных ценозов грунтов Волгоградского, Саратовского водохранилищ и малых рек Самарской области, проведенных в экспедициях совместно с сотрудниками НИИ Гигиены, представлены в табл. 3,4.

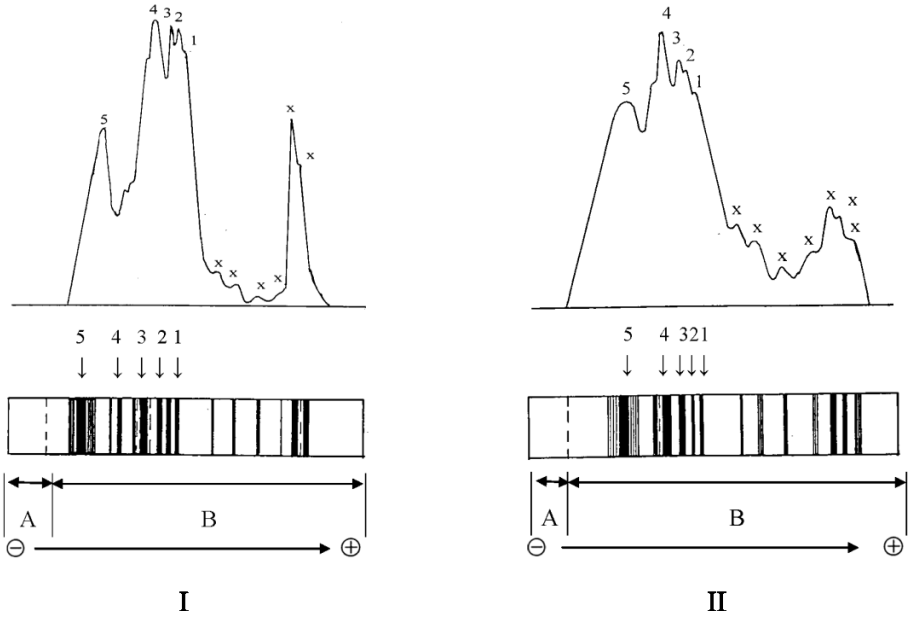

Рис. 2. Спектры ММФ ГДГ активного ила при аэробной стабилизации в течение 48 (I) и 72 (II) часов после залпового сброса общезаводских сточных вод:
А – концентрирующий гель; В – разделяющий гель; 1–5 – ММФ глутаматдегидрогеназы;
Х – низкомолекулярные формы глутаматдегидрогеназы

Таблица 3

ММФ ГДГ микроценозов грунтов водохранилищ

№ п/п	Место отбора проб	Зоны активности, число ММФ ГДГ				
		1	2	3	4	5
1	Водозабор г. Волжский	-	-	-	-	-
2	2415 км, г. Камышин, ниже сброса сточных вод	-	-	-	1	1
3	Южный водозабор г. Камышина	1	1	1	-	-
4	Верхний бъеф Саратовского гидроузла, водозабор г. Балаково	-	-	-	-	1
5	Водозабор поселка Степное	1	1	1	1	-
6	Водозабор г. Вольска, устье реки Б.Иргиз	1	1	1	1	-
7	2354 км, устье реки Еруслан	-	-	-	1	1
8	2237 км; 400 м от правого берега	1	1	1	1	1
9	2215 км; 100 м от правого берега	1	1	1	1	2
10	2205 км, ниже сброса сточных вод г. Саратова, 100 м от правого берега	1	-	-	-	1
	то же, 300 м от правого берега	1	1	1	1	3
	то же, 700 м от правого берега	1	1	1	1	2
11	1752 км, о. Коровий, р-н сброса сточных вод г. Самары	-	-	-	1	1
	1752 км, о. Коровий, 500 м ниже сброса сточных вод г. Самары	1	1	-	1	1
	1752 км, о. Коровий, 200 м от левого берега	-	-	-	1	1
12	1720 км, водозабор г. Самары	-	-	-	-	-

Таблица 4

ММФ ГДГ микроценозов грунтов малых рек

№ п/п	Место отбора проб	Зоны активности, число ММФ ГДГ				
		1	2	3	4	5
1	р. Чапаевка, 1 км выше устья	1	-	1	1	-
2	р. Чапаевка, 1 км ниже впадения р. Криуши	1	1	1	-	-
3	р. Чапаевка, 500 м ниже впадения р. Криуши	1	1	1	-	-
4	р. Чапаевка, 500 м выше впадения р. Криуши	-	-	1	1	1
5	р. Чапаевка, порт	1	1	1	1	1
6	р. Безенчук, устье	-	-	-	1	1
7	р. Волга, 200 м выше устья р. Безенчук	1	1	1	1	1
8	р. Волга, 200 м ниже устья р. Безенчук	-	-	-	1	1
9	р. Криуша, район сброса сточных вод Новокуйбышевского НПЗ	-	1	1	1	1
10	р. Самара, устье	-	-	-	1	1
11	р. Сок, устье	-	-	1	1	1
12	р. Сок, 100 м выше Сокского карьера	-	-	1	1	1

Из данных табл. 3 видно, что с наибольшей гетерогенностью ГДГ выявлена в районе сброса сточных вод г. Саратова и на протяжении 20–30 км по течению р. Волги от места сброса. Причем, установлено явное преобладания активности минорных форм над ГДГ-5. Это указывает на интенсивные процессы восстановительного аминирования 2–оксоглутарата, на ассимиляционные функции фермента и, соответственно, на активное изъятие аммонийного азота из водной среды. не исключена возможность загрязнения бактериальной биомассой грунтов водохранилищ вследствие выноса активного ила из сооружений биологической очистки сточных вод. Однако экспериментального подтверждения это предположение не получило, поскольку показатели общего микробного числа образцов грунтов в указанных районах отличались незначительно.

Следует отметить, что именно в этих образцах в области ГДГ-5 вместо одной выявлено по 2–3 фракции. Установленное может быть следствием модифицирующего влияния загрязнителей промышленных предприятий г. Саратова на генетический аппарат гидробионтов или на постсинтетические изменения свойств белковых молекул. В образцах грунтов р. Волги выше по течению практически до г. Самары и гидроузла г. Жигулевска были выявлены от 2 до 5 ММФ фермента.

В преобладающем количестве экспериментов в микроценозах грунтов водохранилища установлена бóльшая встречаемость минорных форм фермента – ГДГ-1, ГДГ-2 и ГДГ-3. Это указывает на достаточно благоприятный гидрохимический режим в придонных областях водохранилища на уровне г. Самары.

В образцах грунтов малых рек Самарской области ММФ ГДГ по составу и гетерогенности практически не отличаются от таковых грунтов водохранилищ (табл. 4). Однако следует отметить бóльшую встречаемость и более выраженную активность ГДГ-5. Это указывает на динамическое равновесие окислительного дезаминирования глутамата и восстановительного аминирования 2–оксоглутарата. Увеличение частоты встречаемости ГДГ-5 свидетельствует о неблагоприятном кислородном режиме и некотором преобладании анаэробных процессов метаболизма над аэробными. Снижение содержания кислорода в воде может быть следствием загрязнения малых рек органическими веществами. Загрязнение рек Чапаевки и Криуши условно чистыми сточными водами химических производств подтверждено значениями ХПК и БПК, превышающими допустимые для внутренних водоемов. В равной степени это относится и к образцам грунтов реки Сок.

Выводы

1. Структурная организация ГДГ активного ила, динамика активности ММФ фермента в процессе биологической очистки промышленных сточных вод и сточных вод городской канализации свидетельствуют о существовании тонких механизмов регуляции аминокислотного и белкового обменов в клетках активного ила на уровне субстратов и энергетического статуса.

2. На действующих сооружениях биологической очистки установлено явное предпочтение реакции окислительного дезаминирования глутамата во вторичных отстойниках и в головных отсеках аэротенков. Переход биомассы ила в аэрируемые участки сооружений биологической очистки сопровождается изменением соотношения активности ММФ ГДГ в пользу восстановительного аминирования 2–оксоглутарата. Это может быть объяснено изъятием загрязнителей, их окислением и улавливанием энергии в форме аденилатов, которые в свою очередь являются отрицательными эффекторами реакции окислительного дезаминирования глутамата.

3. Динамика изменения соотношения активности ММФ ГДГ в моделях и на действующих сооружениях биологической очистки находится в зависимости от гидрохимического режима, в частности, от степени относительного аэробиоза и анаэробиоза в гидроэкосистеме. Установлено предпочтение реакции окислительного дезаминирования глутамата в условиях относительного анаэробиоза и, наоборот, преобладание реакции восстановительного аминирования 2–оксоглутарата при избытке кислорода. Предпочтение реакции окислительного дезаминирования глутамата при относительном анаэробиозе подтверждено в сериях экспериментов развития гидроэкосистем в условиях, лимитированных содержанием кислорода.

4. Залповые сбросы сточных вод в зависимости от содержания высокотоксичных соединений приводят к полному или частичному блокированию фермента. Реанимация и аэробная стабилизация подвергнутого стрессу активного ила сопровождается индукцией и выявлением низкомолекулярных форм ГДГ, а также образованием модифицированных высокомолекулярных форм фермента. Реактивация ММФ ГДГ происходила через 20–30 ч стабилизации, а восстановление исходной структурной организации фермента через 48–72 ч.

5. Максимальная гетерогенность и активность ГДГ установлена в образцах грунтов Саратовского и Волгоградского водохранилищ в районах сброса очищенных сточных вод городов и на протяжении 20–30 км ниже по течению. Соотношение активности ММФ ГДГ указывает на предпочтение реакции восстановительного аминирования и ассимиляционные функции фермента. В образцах грунтов малых рек, принимающих условно чистые сточные воды промышленных производств, выявлено динамическое равновесие между реакциями окислительного дезаминирования глутамата и восстановительного аминирования 2–оксоглутарата. Увеличение частоты встречаемости ГДГ-5 свидетельствует о некотором преобладании анаэробиоза, что является следствием загрязнения сточными водами.

6. Данные состава, степени гетерогенности и соотношения активности ММФ ГДГ микроценозов модельных и природных гидроэкосистем в процессе их развития могут быть использованы для организации мониторинга последних.

Список литературы

1. Одум Ю. Основы экологии. – М.: Мир, 1975. – 740 с.

2. Розенберг Г.С., Краснощеков Г.П., Крылов Ю.М. Устойчивое развитие: мифы и реальность. – Тольятти: ИЭВБ РАН, 1998. – 191 с.

3. Софьин А.В., Диденко Т.Г. Молекулярные формы глутуматдегидрогеназы и глутаматсинтетазы симбиотической азотфиксирующей ассоциации Azolla-Anabaena. Биохимия. – 1990. – № 4. – С. 634–644.

4. Шаталаев И.Ф., Телитченко М.М. Молекулярные формы малатдегидрогеназы активного ила в процессе очистки сточных вод на городских станциях аэрации. Химия и технология воды. – Киев, 1992. – N.14, №9. – С. 713–717.

5. Rice David W. Crystalllization of an NAD – dependent glutamate dehydrogenase from Clostridium simbiosum. J. Mol, Biol. – 1985. – № 1. – P. 147–149.