

THE INFLUENCE OF AUTOLYSIS ON THE PROTEIN-PEPTIDE PROFILE OF *Bos taurus* AND *Sus scrofa* HEART AND AORTA TISSUES

ВЛИЯНИЕ АВТОЛИЗА НА ПРОТЕОМНО-ПЕПТИДНЫЙ ПРОФИЛЬ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ И АОРТЫ *Bos taurus* и *Sus scrofa*

Chernukha I.M.¹, Fedulova L.V.¹, Kotenkova E.A.¹, Shishkin S.S.², Kovalyov L.I.²

¹The V.M. Gorbatov All-Russian Meat Research Institute, Moscow, Russia

²Federal State Institution "Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Ключевые слова: аорта, тканевая специфичность, автолиз, электрофорез

Keywords: aorta, tissue specificity, autolysis, electrophoresis

Аннотация

В статье представлены результаты изучения влияния автолитических процессов на белково-пептидный состав сердечной мышцы и аорты *Bos taurus* и *Sus scrofa*, приведены результаты идентификации тканеспецифичных белковых молекул и влияние автолиза на их сохранность. В тканях аорты *Sus scrofa* были обнаружены аполипопротеин А-1, участвующий в образовании липопротеинов высокой плотности, пероксиредоксин-1, участвующий в подавлении окислительного стресса, галектин-1, индуцирующий апоптоз Т-лимфоцитов, а также ряд белков теплового шока, имеющих молекулярную массу менее 30 кДа. Было установлено, что функциональные белковые вещества с молекулярной массой менее 30 кДа сохраняются в процессе заморозки, но разрушаются под действием ферментов сырья при автолизе. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №16-16-10073).

Abstract

The article presents the results of autolytic processes impact on the protein-peptide profile of *Bos taurus* and *Sus scrofa* cardiac muscle and aorta. The results of tissue-specific protein identification are also presented as well as the effect of autolysis. Apolipoprotein A-1 involved in the formation of high-density lipoproteins, peroxiredoxin-1 involved in the suppression of oxidative stress, galectin-1 induced apoptosis of T-lymphocytes, as well as number of heat shock proteins with molecular weight less than 30 kDa were identified in *Sus scrofa* aorta tissue. It was discovered that functional proteins with molecular weight less than 30 kDa are retained during the freezing process, but destroyed under the action of autolytic enzymes. This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 16-16-10073).

Введение

На сегодняшний день разработано множество стратегий по улучшению функционально-технологических характеристик мяса и мясных продуктов, которые могут быть реализованы путем добавления различных функциональных соединений, а также прижизненной модификацией животного сырья. В технологии мясных продуктов функционального и специализированного назначения успешно применяют модификацию состава (технологии модификации жирных кислот, контроля натрия хлорида), внесение функциональных элементов и специализированных модулей (растительных компонентов (масел, экстрактов, волокон), соевого белка, натуральных и синтетических антиоксидантов, молочно-кислых бактерий, рыбьего жира, производных белков, выделенных из органов и тканей млекопитающих (в частности, свиней и быков) — биологически активных пептидов) [5, 9].

С развитием современных методов протеомики стало возможным создавать протеомные карты с последующей идентификацией белковых фракций, соответствующим одному или более белкам с определенной биологической ролью. Также было обнаружено, что экспрессия генов происходит по принципу тканевой специфичности [4], что позволило рассматривать животные белки не только в качестве источника пластического материала, но и как закодированную аминокислотную последовательность, включающую полипептидные фрагменты регуляторного и сигнального порядка [8, 10].

Introduction

To date, a variety of strategies for improvement the functional and technological characteristics of meat and meat products is developed, such as addition of various functional compounds, and modification of animal meat raw during the lifetime. Composition modification (fatty acids modification technology, sodium chloride control), introduction of functional elements and specialized additives (plant components (oils, extracts, fibers), soy protein, natural and synthetic antioxidants, lactic acid bacteria, fish oil, protein derivatives isolated from mammalian (in particular pigs and bovines) organs and tissues — biologically active peptides) [5, 9] are successfully applied in the technology of specialized and functional meat products.

With the development of modern proteomic methods, it has become possible to create proteomic maps with subsequent identification of protein fractions corresponding to one or more proteins with specific biological function. It was also found that gene expression occurs on the basis of tissue specificity [4] allowing consideration of animal proteins not only as a source of plastic material, but also as encoded amino acid sequences consisting of regulatory and signal polypeptide fragments [8, 10]. A variety of methods is used for accumulation of functional peptides in raw meat including fermentation (using the starter cul-

Для накопления в мясном сырье функциональных пептидов используют различные методы, в том числе включающие ферментацию (с использованием стартовой культуры или фермента), автолиза или прямого гидролиза [5, 8–10]. Однако неоднозначно стоит вопрос целесообразности направленного протеолиза в отношении тканеспецифичных белков уже несущих биологическую функцию и способных избирательно расщепляться ферментами желудочно-кишечного тракта.

Ранее авторами были проведены исследования сердца и аорт *Bos taurus* и *Sus scrofa*, которые показали наличие в них тканеспецифичных биологически активных веществ с молекулярной массой в диапазоне от 100 до 10 кДа, вовлеченных в липидный обмен, антиоксидантную защиту и функционирование эндотелиального слоя сосудов [2, 3].

Целью данного исследования являлось изучение влияния автолитических процессов на сохранность целевых белковых молекул, содержащихся в сердечной мышце и аорте сельскохозяйственных животных (свиней и КРС).

Материалы и методы

Объектами исследования являлись ткани сердечной мышцы и аорты *Bos taurus* и *Sus scrofa*, замороженные при минус 10°C или подвергнутые автолизу при 2±2°C в течение 4 суток.

Одномерный электрофорез проводился по методу Лэммли [7] с градиентом ПААГ 7,5–25% в присутствии SDS. В качестве свидетелей использовали маркер, включающий одиннадцать стандартов с молекулярной массой 170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17 и 10 кДа (Fermentas, США).

Двумерный электрофорез (ДЭ) проводился по методу О'Фаррелла [11] с изоэлектрофокусированием в амфолиновом (IEF-PAGE) градиенте pH; последующую детекцию белков проводили окрашиванием азотнокислым серебром, как описано ранее [1, 6].

Идентификацию белковых фракций на ДЭ осуществляли после трипсинолиза методами MALDI-TOF MS и MS/MS масс-спектрометрии на MALDI- время-пролетном масс-спектрометре Ultraflex («Bruker», Германия) с УФ-лазером (336 нм) в режиме положительных ионов в диапазоне масс 500–8000 Да с калибровкой их по известным пикам автолиза трипсина. Анализ полученных масс-спектров триптических пептидов выполняли с помощью программы Mascot, опция Peptide Fingerprint («Matrix Science», США), с точностью определения массы MH⁺ равной 0.01%, осуществляя поиск по базам данных Национального центра биотехнологической информации США (NCBI).

Результаты и их обсуждение

Проведенный сравнительный протеомный анализ замороженных и автолизированных образцов тканей сердца и аорт *Bos taurus* и *Sus scrofa* показал, что наиболее интенсивное представление полос на электрофореграмме было отмечено в диапазоне от 100 до 10 кДа. Однако в сырье, подвергнутом автолизу, выявлено увеличение разнообразия и интенсивности фракций особенно у автолизированной сердечной мышцы (Рис. 1).

ture or enzyme), autolysis or direct hydrolysis [5, 8–10]. However, a question of expediency of directed proteolysis against tissue-specific proteins already possessing biological function and selectively cleaved by gastrointestinal tract enzymes is ambiguous.

Previously, we have studied aortas and cardiac muscles of *Bos taurus* and *Sus scrofa* and showed the presence of tissue-specific biologically active substances with molecular weight in the range of 10 to 100 kDa, which were involved in lipid metabolism, antioxidant protection and functioning of vascular endothelial layer [2, 3].

The purpose of this study was to evaluate the effect of autolytic processes on the preservation of target protein molecules contained in heart and aorta of farm animals (*Bos taurus* and *Sus scrofa*).

Materials and methods

Objects of the study were *Bos taurus* and *Sus scrofa* cardiac muscle and aorta tissues frozen at minus 10 °C or subjected to autolysis at 2 ± 2 °C for 4 days.

One-dimensional electrophoresis was performed according to the method of Laemmli [7] in 7.5–25 % polyacrylamide gel with the presence of SDS. The marker was used comprising of eleven standards with molecular weight of 170, 130, 95, 72, 55, 43, 34, 26, 17, and 10 kDa (Fermentas, USA).

Two-dimensional electrophoresis was performed according to the method of O'Farrell [11] with isoelectric focusing in ampholine pH gradient (IEF-PAGE). The subsequent detection of the proteins was carried out by staining with silver nitrate as described previously [1, 6].

Identification of protein fractions was performed on DE after trypsinolysis by MALDI-TOF/MS and MS/MS mass spectrometry on Ultraflex MALDI-TOF mass spectrometer (Bruker, Germany) with UV laser (336 nm) in the positive ion mode in molecular weight range of 500–8000 Da with calibration according to known peaks of trypsin autolysis. Analysis of obtained tryptic peptides mass spectra was performed using Peptide Fingerprint option in Mascot software (Matrix Science, USA) with MH⁺ mass determination accuracy of 0.01%; search was performed in databases of the National Center for Biotechnology Information, USA (NCBI).

Results and discussion

The comparative proteomic analysis of frozen and autolyzed tissue samples of *Bos taurus* and *Sus scrofa* cardiac muscle and aorta showed that the most intense bands on the electrophoregram were observed in the range from 100 to 10 kDa. However, samples subjected to autolysis revealed an increase in the diversity and intensity of factions especially in autolyzed cardiac muscle (Figure 1).

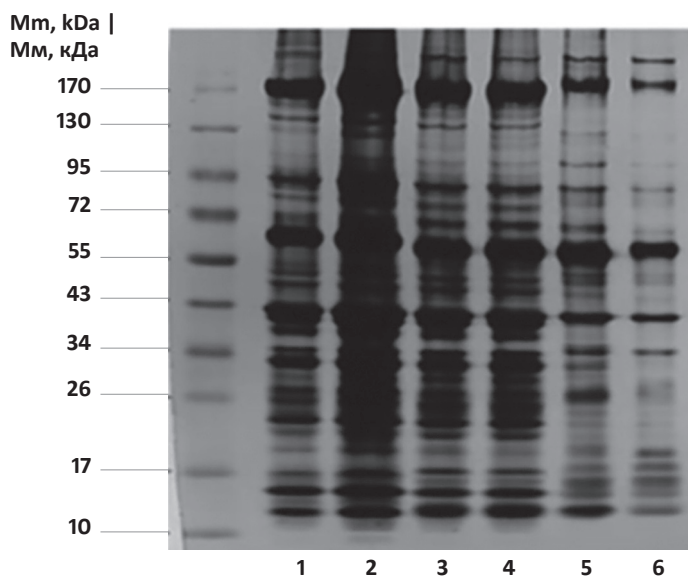


Figure 1. The results of electrophoretic analysis of proteins according to Laemmli; staining with silver nitrate. Legend: 1 — frozen *Bos taurus* heart, 2 — *Bos taurus* heart (autolysis), 3 — frozen *Sus scrofa* heart, 4 — *Sus scrofa* heart (autolysis), 5 — *Sus scrofa* aorta (autolysis), 6 — *Bos taurus* aorta (autolysis)

Рис. 1. Результаты электрофоретического анализа белков по Лэммли. Окраска азотнокислым серебром. Условные обозначения: 1 — замороженное сердце *Bos taurus*, 2 — сердце *Bos taurus* (автолиз), 3 — замороженное сердце *Sus scrofa*, 4 — сердце *Sus scrofa* (автолиз), 5 — аорта *Sus scrofa* (автолиз), 6 — аорта *Bos taurus* (автолиз)

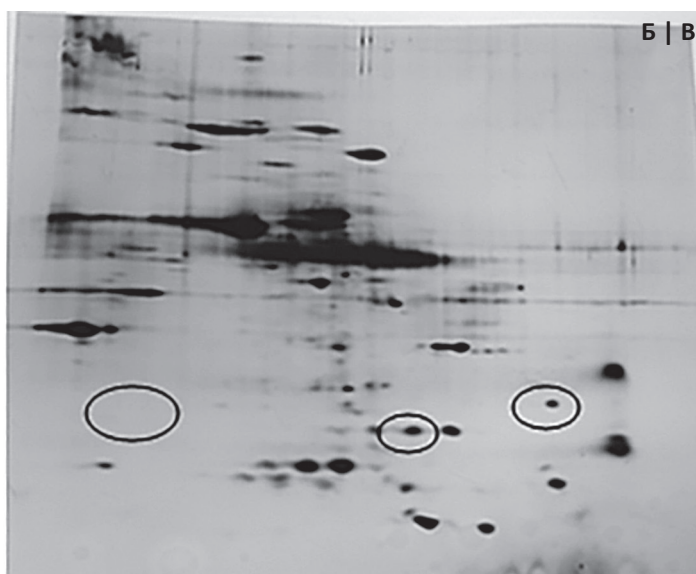
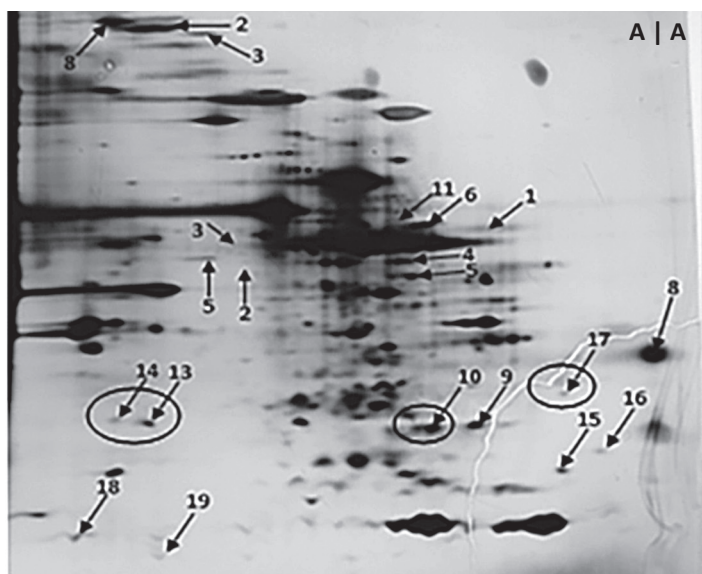


Figure 2. The results of electrophoretic analysis of proteins according to O'Farrell method. A — *Sus scrofa* aorta, B — *Bos taurus* aorta
Рис. 2. Результаты электрофоретического анализа белков по методу О'Фаррелла. А — аорта *Sus scrofa*, Б — аорта *Bos taurus*

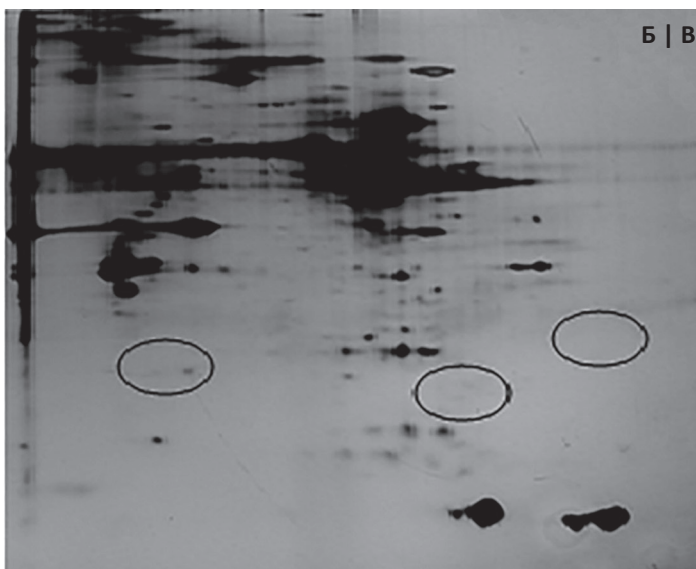
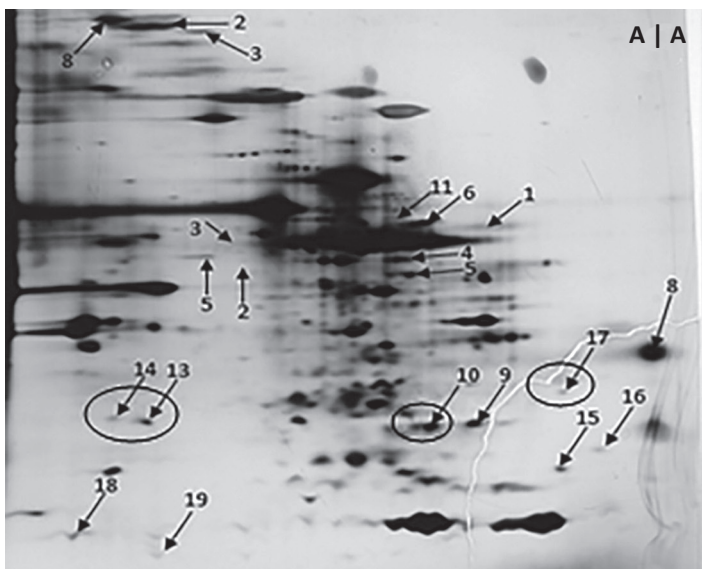


Figure 3. The results of electrophoretic analysis of proteins according to O'Farrell method. A — *Sus scrofa* aorta (frozen), B — *Sus scrofa* aorta (autolysis)
Рис. 3. Результаты электрофоретического анализа белков по методу О'Фаррелла. А — аорта *Sus scrofa* (замороженная), Б — аорта *Sus scrofa* (автолиз)

Стоит отметить, что мажорные белки сердечных мышц *Bos taurus* и *Sus scrofa*, оказались практически одинаковыми. Однако существенные межвидовые отличия были обнаружены при сравнении протеомных профилей образцов аорты. Особенно ярко они проявлялись на примере тканеспецифичных белков (рис. 2, табл. 1): в ткани аорты *Sus scrofa* были обнаружены аполипопротеин А-1 (13, 14), участвующий в образовании липопротеинов высокой плотности, перокси-редоксин-1 (10, в смеси с трансгелином), участвующий в подавлении окислительного стресса, галектин-1 (17), индуцирующий апоптоз Т-лимфоцитов, а также ряд белков теплового шока, имеющих молекулярную массу менее 30 кДа.

Влияние аутолиза на сохранность целевых тканеспецифичных белков, обнаруженных в тканях аорты *Sus scrofa*, было также изучено методом двумерного электрофореза по О'Фарреллу (Рис. 3).

В результате исследований было показано, что обнаруженные тканеспецифичные белки (аполипо-протеин А-1, пероксиредоксин 1, галектин-1 и белки

Major proteins of *Bos taurus* and *Sus scrofa* cardiac muscle were almost identical. However, significant interspecies differences were found when comparing the proteomic profile of the aorta samples. Tissue-specific proteins were identified in *Sus scrofa* aorta tissue (Figure 2, Table 1): apolipoprotein A-1 (13, 14) involved in the formation of high-density lipoproteins, peroxiredoxin-1 (10, in mixture with transgelin) involved in the suppression of oxidative stress, galectin-1 (17) induced apoptosis of T-lymphocytes, as well as a number of heat shock proteins with molecular weight less than 30 kDa.

Autolysis effect on target tissue-specific proteins detected in *Sus scrofa* aorta tissues was also studied by two-dimensional electrophoresis according to O'Farrell (Figure 3).

It was shown that the detected tissue-specific proteins (apolipoprotein A-1, peroxiredoxin 1, galectin-1 and

Table 1. The results of mass spectrometric identification (MALDI-TOF/MS and MS/MS) of protein fractions in *Sus scrofa* aorta tissue

Табл. 1. Результаты масс-спектрометрической идентификации (MALDI-TOF MS и MS / MS) белковых фракций из ткани аорты *Sus scrofa*

No. №	Protein name; (Gene symbol) Наименование белка; (символ гена)	S / M / C *	mM/pI (experiment)** Мм/pI (эксп.)**	mM/pI (calculation)** Мм/pI (расчет.)**
1	Fragment of type II cytoskeletal keratin 1 (KRT1) Фрагмент цитоскелетного 1 кератина II типа (KRT1)	74/9/17	55.0/8.10	65.9/8.16
2	Actin-related protein 3 (ACTR3) Актин-связанный белок 3, actin-related protein 3 (ACTR3)	174/15/43	47.0/5.60	47.4/5.61
3	Fragment of type II cytoskeletal keratin 1 (KRT1) Фрагмент цитоскелетного 1 кератина II типа, (KRT1)	59/7/15	48.0/5.55	65.9/8.16
4	X1 isoform of integrin-linked kinase (ILK) Интегрин-связанная протеинкиназа изоформа X1, (ILK)	188/21/45	50.0/8.00	51.4/8.30
5	X2 isoform of β -enolase (ENO3) β -енолаза изоформа X2, (ENO3)	259/25/64	47.0/8.05	47.1/8.05
6	X1 isoform of prolargin (PRELP) Проларгин изоформа X1, (PRELP)	73/2/5	63.0/7.95	43.7/9.53
7	X1 isoform of poly-(ADP-ribose)-polymerase 6 (PKM) Поли (АДФ-рибозо)-полимераза 6 изоформа X1, (PKM)	161/17/38	58.0/8.10	57.8/7.96
8	Protein 1 containing 4 1/2 LIM domain, isoform C, isoform X5 (FHL1C) Белок 1 содержащий 4 1/2 LIM домена, изоформы C изоформа X5, (FHL1C)	79/7/24	29.0/9.00	33.5/8.75
9	Transgelin (TAGLN) Трансгелин, (TAGLN)	327/32/86	22.0/8.40	22.6/8.87
10	Mixture transgelin (TAGLN) and X5 isoform of peroxiredoxin 1 (PRDX1) Смесь трансгелина, (TAGLN), и пероксиредоксина 1 изоформа X5, (PRDX1)	283/31/82 106/11/52	22.0/8.20	22.6/8.87 21.9/8.67
11	Albumin (1) (ALB) Альбумин (1), (ALB)	168/8/16	250.0/6.80	69.3/5.92
13	Pre-apolipoprotein A-1 (APOA1) Пре-аполипопротеин А-1, (APOA1)	177/19/51	25.0/5.00	30.0/5.47
14	Apolipoprotein A-1 (APOA1) Аполипопротеин А-1 (APOA1)	152/15/46	25.0/4.95	30.3/5.38
15	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B (LOC100154783) Пептидил-пролил цис-транс изомераза В (LOC100154783)	220/11/33	18.0/9.20	23.9/9.44
16	Calponin-1 (CNN1) Кальпонин-1 (CNN1)	212/21/49	28.0/8.95	33.2/8.91
17	Galectin-1 (GLN1) Галектин-1 (GLN1)	178/8/50	14.5/4.85	14.6/5.07
18	S100-A13 protein (S100A13)*** Белок S100-A13 (S100A13)***	77/1/17	11.0/5.00	11.0/5.46

* S/M/C — traditional identification indicators adopted in the English literature: Score — indicator of conformity or «scorecard»; Match peptides — the number of matched peptides; Coverage — % coverage of the entire amino acid sequence of the protein by identified peptides.
 ** mM/pI (experiment) — scores obtained as a result of electrophoretic mobility on the DE and mM/pI (calculation) — estimates made based on amino acid sequence data with consideration of signal peptide removal, but with no consideration of other post-synthetic modifications using the ExPASy Compute pI/Mw tool software.

* S/M/C — традиционные показатели идентификации, принятые в англоязычной литературе: Score — показатель соответствия или «счет очков»; Match peptides — количество совпавших пептидов; Coverage — % покрытия полной аминокислотной последовательности белка выявленными пептидами.

** Мм/pI (эксп.) — полученные оценки по результатам электрофоретической подвижности на ДЭ, а Мм/pI (расчет.) — расчетные оценки, сделанные из данных об аминокислотной последовательности с учетом удаления сигнального пептида, но без учета других постсинтетических модификаций с использованием программы ExPASy Compute pI/Mw tool.

теплового шока), подверглись протеолизу в процессе 4-х суточного автолиза (Рис. 3).

Выводы

Показано, что ткани сердец и аорт *Sus scrofa* и *Bos taurus* характеризуются высокой тканевой специфичностью, причем наибольшая специфичность обнаружена в тканях аорты *Sus scrofa*. Было определено, что автолитические процессы приводят к увеличению разнообразия и интенсивности белковых и пептидных фракций особенно у автолизированной сердечной мышцы *Bos taurus*. Также было выявлено негативное воздействие автолитических ферментов на функциональные тканеспецифичные биологически активные белковые вещества с молекулярной массой менее 30 кДа. Таким образом, ткани аорты *Sus scrofa* как функциональный ингредиент целесообразно применять в нативном или замороженном виде для сохранения природных активных компонентов.

heat shock proteins) underwent proteolysis during 4-day autolysis (Figure 3).

Conclusions

It was demonstrated that *Bos taurus* and *Sus scrofa* cardiac muscle and aorta tissues are characterized by high tissue specificity with the highest tissue specificity detected in *Sus scrofa* aorta. It was determined that autolytic processes result in increase of diversity and intensity of protein and peptide fractions especially in autolyzed *Bos taurus* cardiac muscle. Furthermore, negative effects of autolytic enzymes on functional tissue-specific protein bioactive substances with molecular weight less than 30 kDa were also found. Thus, for preservation of natural active ingredients, the use of *Sus scrofa* aorta tissues as a functional ingredient is advisable in native or frozen form.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ковалев Л.И. Протеомное изучение белков в образцах свинины и выработанных из нее мясных продуктах / Л.И. Ковалев, С.С. Шишкин, М.А. Ковалева, А.В. Иванов, Н.А. Вострикова, И.М. Чернуха // Всё о мясе. — 2013. — №3. — С. 32–34.
2. Лисицын А.Б. Ткани сердца и аорты крупного рогатого скота и свиней как функциональный мясной ингредиент с заданным белково-пептидным профилем / А.Б. Лисицын, И.М. Чернуха, Л.В. Федулова, Е.А. Котенкова, С.С. Шишкин // Все о мясе. — № 5. — 2013. — С.48–51
3. Чернуха И.М. Влияние тканеспецифичных биомолекул на дисфункцию эндотелия при атеросклерозе / И.М. Чернуха, Л.В. Федулова, Е.А. Котенкова // Все о мясе. — 2016. №1. С. 46–49.
4. Fagerberg, L. Analysis of the Human Tissue-specific Expression by Genome-wide Integration of Transcriptomics and Antibody-based Proteomics/ L. Fagerberg, B.M. Hallstrom, P. Oksvold, C. Kampf, D. Djureinovic, J. Odeberg, M. Habuka, S. Tahmasebpour, A.Danielsson, K. Edlund, A. Asplund, E. Sjostedt, E. Lundberg, C. Al-Khalili Szigyarto, M. Skogs, J.O. Takanen, H. Berling, H. Tegel, J. Mulder, P. Nilsson, J. M. Schwenk, C. Lindskog, F. Danielsson, A. Mardinoglu, Å. Sivertsson, K. von Feilitzen, M. Forsberg, M. Zwaalen, I. Olsson, S. Navani, M. Huss, J. Nielsen, F.Ponten, M. Uhlen // Molecular & Cellular Proteomics. — 2014. — №13. (2). — P. 397–406.
5. Handbook of Meat and Meat Processing, Second Edition/edited Y. H. Hui //USA: Taylor & Francis Group. — 2012. — 1000 p.
6. Kovalyov L.I. Polymorphism of delta3,5-delta2,4-dienoyl-coenzyme A isomerase (the ECH1 gene product protein) in human striated muscle tissue / L.I. Kovalyov, M.A. Kovalyova, P.L. Kovalyov, M.V. Serebryakova, S.A. Moshkovskii, S.S. Shishkin // Biochemistry (Moscow). — 2006. — V.71. — № 4. — P. 448–453.
7. Laemmli U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // Nature. — 1970. — V.227. — №5259. — P.680–685.
8. Lafarga T. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients/ T. Lafarga, M. Hayes // Meat science. — 2014. — №98. — p. 227–239.
9. Nutraceutical Science and Technology (Book 4). Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease/edited by Y. Mine, F. Shahidi//USA: Taylor & Francis Group. — 2006. — 688 p.
10. Udenigwe C. C. Meat proteome as source of functional biopeptides/C. C. Udenigwe, A. Howard//Food Research International. — 2013. — №54. — p. 1021–1032.
11. Xu Y. Differential proteome and transcriptome analysis of porcine skeletal muscle during development/ Y. Xu, H. Qian, X. Feng, Y. Xiong, M. Lei, Z. Ren, B. Zuo, D. Xu, Y. Ma, H. Yuan// Journal of Proteomics. — 2012. — V.75(7). — P.2093–2108.

REFERENCES

1. Kovalyov L.I. Proteomic study of proteins in pork and meat products / L.I. Kovalyov, S.S. Shishkin, M.A. Kovalyova, A.V. Ivanov, N.L. Vostrikova, I.M Chernukha // All about meat. — 2013. — No. 3. — P. 32–34.
2. Lisitsyn A.B. Cattle and pig heart and aorta tissues as a functional food ingredient with a protein-peptide profile / A.B. Lisitsyn, I.M. Chernukha, L.V. Fedulova, E.A. Kotenkova, S.S. Shishkin // All about meat. — No. 5. — 2013. — P. 48–51
3. Chernukha I.M. The influence of tissue-specific biomolecules on endothelial dysfunction in atherosclerosis / I.M. Chernukha, L.V. Fedulova, E.A. Kotenkova // All about meat. — 2016. — No. 1. — P. 46–49.
4. Fagerberg, L. Analysis of the Human Tissue-specific Expression by Genome-wide Integration of Transcriptomics and Antibody-based Proteomics/ L. Fagerberg, B.M. Hallstrom, P. Oksvold, C. Kampf, D. Djureinovic, J. Odeberg, M. Habuka, S. Tahmasebpour, A.Danielsson, K. Edlund, A. Asplund, E. Sjostedt, E. Lundberg, C. Al-Khalili Szigyarto, M. Skogs, J.O. Takanen, H. Berling, H. Tegel, J. Mulder, P. Nilsson, J. M. Schwenk, C. Lindskog, F. Danielsson, A. Mardinoglu, Å. Sivertsson, K. von Feilitzen, M. Forsberg, M. Zwaalen, I. Olsson, S. Navani, M. Huss, J. Nielsen, F.Ponten, M. Uhlen // Molecular & Cellular Proteomics. — 2014. — No. 13 (2). — P. 397–406.
5. Handbook of Meat and Meat Processing, Second Edition/edited Y. H. Hui //USA: Taylor & Francis Group. — 2012. — 1000 P.
6. Kovalyov L.I. Polymorphism of delta3,5-delta2,4-dienoyl-coenzyme A isomerase (the ECH1 gene product protein) in human striated muscle tissue / L.I. Kovalyov, M.A. Kovalyova, P.L. Kovalyov, M.V. Serebryakova, S.A. Moshkovskii, S.S. Shishkin // Biochemistry (Moscow). — 2006. — V. 71. — No. 4. — P. 448–453.
7. Laemmli U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // Nature. — 1970. — V. 227. — No. 5259. — P. 680–685.
8. Lafarga T. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients / T. Lafarga, M. Hayes // Meat science. — 2014. — No. 98. — P. 227–239.
9. Nutraceutical Science and Technology (Book 4). Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease/edited by Y. Mine, F. Shahidi//USA: Taylor & Francis Group. — 2006. — 688 P.
10. Udenigwe C. C. Meat proteome as source of functional biopeptides/C. C. Udenigwe, A. Howard//Food Research International. — 2013. — No. 54. — P. 1021–1032.
11. Xu Y. Differential proteome and transcriptome analysis of porcine skeletal muscle during development/ Y. Xu, H. Qian, X. Feng, Y. Xiong, M. Lei, Z. Ren, B. Zuo, D. Xu, Y. Ma, H. Yuan// Journal of Proteomics. — 2012. — V. 75(7). — P. 2093–2108.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, ведущий научный сотрудник Экспериментальной клиники-лаборатории биологически активных веществ животного происхождения ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени В.М. Горбатова», 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26
Тел.: 8 (495) 676-97-18
E-mail: imcher@inbox.ru

Федулова Лилия Вячеславовна — кандидат технических наук, заведующий Экспериментальной клиники-лаборатории биологически активных веществ животного происхождения ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени В.М. Горбатова», 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26
Тел.: 8 (495) 676-92-11
E-mail: fedulova@vniimp.ru

Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, научный сотрудник Экспериментальной клиники-лаборатории биологически активных веществ животного происхождения ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности имени В.М. Горбатова», 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26
Тел.: 8 (495) 676-92-11
E-mail: lazovlena92@yandex.ru

Шишкин Сергей Сергеевич — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией биомедицинских исследований Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д.33, стр. 2
Тел.: +7 (495) 952-58-86
E-mail: sergeyshishkin@yandex.ru

Ковалев Леонид Иванович — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д.33, стр. 2
Тел.: +7 (495) 952-58-86
E-mail: kovalyov@inbi.ras.ru

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.06.2016

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Chernukha Irina Mihailovna — doctor of technical sciences, professor, leading research scientist of Experimental clinic — laboratory of biologically active substances of an animal origin of the V.M. Gorbato All-Russian Meat Research Institute, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Ph.: 8 (495) 676-97-18
E-mail: imcher@inbox.ru

Fedulova Liliya Vaycheslavovna — candidate of technical sciences, head of Experimental clinic — laboratory of biologically active substances of an animal origin of the V.M. Gorbato All-Russian Meat Research Institute, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Ph.: 8 (495) 676-92-11
E-mail: fedulova@vniimp.ru

Kotenkova Elena Alexandrovna — candidate of technical sciences, research scientist of Experimental clinic — laboratory of biologically active substances of an animal origin of the V.M. Gorbato All-Russian Meat Research Institute, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26
Ph.: 8 (495) 676-92-11
E-mail: lazovlena92@yandex.ru

Shishkin Sergey Sergeevich — doctor of biological sciences, professor, head of the biomedical research laboratory of Federal State Institution «Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences, 119071, Moscow, Leninsky prospect, 33 bldg. 2
Ph.: +7 (495) +952-58-86
E-mail: sergeyshishkin@yandex.ru

Kovalyov Leonid Ivanovich — doctor of biological sciences, leading research scientist of the biomedical research laboratory of Federal State Institution «Federal Research Centre «Fundamentals of Biotechnology» of the Russian Academy of Sciences, 119071, Moscow, Leninsky prospect, 33 bldg. 2
Ph.: +7 (495) +952-58-86
E-mail: kovalyov@inbi.ras.ru

Contribution

Authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest .

Received 07.06.2016