

УДК 577.152.34.032:597.553.2_113.32

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ГИДРОЛАЗ (ПРОТЕИНАЗ И НУКЛЕАЗ) У РАЗНОВОЗРАСТНОЙ МОЛОДИ ЛОСОСЯ (*SALMO SALAR* L.) ИЗ Р. ИНДЕРА

**М. Ю. Крупнова, Е. А. Вдовиченко, Р. У. Высоцкая,
Д. А. Ефремов, А. Е. Веселов, Н. Н. Немова**

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Приведены результаты исследования активности лизосомальных гидролаз (нуклеаз и протеиназ – катепсинов) у сеголеток 0+, пестряток 1+, 2+, смолтов 2+ и 3+ лосося (*Salmo salar* L.) из р. Индера бассейна Белого моря, свидетельствующие об их возможном участии в процессах, сопровождающих рост и развитие молоди. Максимальные значения уровня активности исследуемых ферментов обнаружены у сеголеток в возрасте 0+, что связано, по-видимому, с обеспечением «строительными блоками» биосинтетических процессов накопления белка, необходимого для последующих структурных преобразований растущей молоди в период, когда завершается эндогенное и начинается переход на смешанное питание. В дальнейшем развитии молоди лосося (пестрятки возраста 1+, 2+ и смолты возраста 2+, 3+) активность катепсина D (основного протеолитического фермента лизосом с катаболической функцией) в печени несколько снижается, а в скелетных мышцах она практически не обнаруживается. Такие изменения в активности катепсина D согласуются с недетерминированностью процессов роста у рыб, в основе которой лежит преобладание синтетических процессов над катаболическими. Сравнительно высокая активность катепсина B (цистеиновой протеиназы лизосом с регуляторной функцией) и нуклеаз (РНказы и ДНказы) у молоди лосося более старших возрастов (3+ смолты), скорее всего, отражает роль этих ферментов в процессах формирования смолтов, способных к последующей миграции для нагула в море. Выявленная динамика активности лизосомальных гидролаз у молоди лосося свидетельствует о наличии корреляции между активностью исследуемых ферментов и возрастом рыб, что указывает на участие лизосомальных ферментов в перестройках белкового обмена, сопровождающих процессы роста и раннего развития лососевых.

Ключевые слова: лизосомы; протеазы; нуклеазы; раннее развитие; лосось *Salmo salar* L.; р. Индера.

**M. Yu. Krupnova, E. A. Vdovichenko, R. U. Vysotskaya, D. A. Efremov,
A. E. Veselov, N. N. Nemova. THE ACTIVITY OF LYSOSOMAL
HYDROLASES (PROTEASES AND NUCLEASES) IN SALMON (*SALMO
SALAR* L.) JUVENILES OF DIFFERENT AGE CATEGORIES FROM THE
INDERA RIVER**

The results on the activity of lysosomal hydrolases (proteases (cathepsins) and nucleases) in salmon (*Salmo salar* L.) underyearlings (0+), 1+ and 2+ parr, and smolts (2+, 3+) from the Indera River (White Sea drainage basin) are reported, testifying their possible

involvement in the processes accompanying the growth and development of juveniles. The highest levels of the enzymes' activity found in 0+ fish were probably related to the demand for "building blocks" for the biosynthetic processes of protein accumulation necessary for the subsequent structural changes in growing juveniles switching from endogenous nutrition to a mixed diet. Further on, in 1+ & 2+ parr and 2+ & 3+ smolts, the activity of cathepsin D (lysosomal proteolytic enzyme with a catabolic function) decreased somewhat in the liver and was virtually undetectable in skeletal muscles. These changes in the activity of cathepsin D are consistent with the indeterminacy of growth processes in fish, which is based on the prevalence of synthetic processes over catabolic ones. The relatively high activity of cathepsin B (lysosomal cysteine protease with a regulatory function) and nucleases (RNase and DNase) in older salmon smolts (3+) most likely reflects the role of these enzymes in forming the smolts' fitness for foraging migration to the sea. The revealed changes in the activity of lysosomal hydrolases in salmon juveniles indicates there is a correlation between the activity of the enzymes and the fish age, showing that lysosomal enzymes are involved in protein metabolism rearrangements accompanying the processes of growth and development in salmonids.

Key words: lysosomes; proteases; nucleases; early development; salmon *Salmo salar* L.; Indera River.

Введение

На реках Кольского полуострова воспроизводится крупнейшая в России популяция атлантического лосося *Salmo salar* L., в жизненном цикле которого центральное место занимают размножение и нерест [Веселов, Калюжин, 2001]. Подготовка к реализации репродукции начинается в раннем онтогенезе и продолжается вплоть до наступления половой зрелости [Казаков, Веселов, 1998]. На каждом этапе онтогенеза происходят определенные морфологические и физиологические изменения, в основе которых лежат биохимические процессы, которые обеспечиваются взаимодействием различных метаболических систем клетки. К числу таких систем с реконструктивной и защитной функциями относятся лизосомы, обладающие широким комплексом гидролитических ферментов, активных при кислых значениях pH, которые способны расщеплять все органические компоненты клетки [Покровский, Тутельян, 1976; Дин, 1980; Высоцкая, Немова, 2008]. Одними из важнейших лизосомальных гидролаз являются ферменты, обеспечивающие нуклеиновый и тесно с ним связанный белковый обмен в лизосомах, катализирующие гидролиз нуклеотидов и белков, продукты которого могут использоваться в дальнейшем в процессах биосинтезов, сопровождающих рост и развитие организма. Изучение биохимических особенностей процесса роста рыб проводится главным образом на белых мышцах, так как они вносят наибольший вклад в синтез и запасание белка растущего организма рыбы, составляют значительную часть тела (около 60 % веса) и отражают темпы роста рыб [Houlihan et al., 1995].

Печень – орган полифункциональный, чрезвычайно важный для процессов роста и развития любого организма. Практически все вещества (нутриенты, микроэлементы, ксенобиотики), тем или иным путем поступающие в организм, подвергаются химическим преобразованиям в печени и перераспределяются по органам и тканям. В этих процессах участвуют самые разнообразные ферменты, в том числе кислые гидролазы, роль которых не сводится только к гидролизу экзогенных веществ, они также выполняют и ряд вспомогательных функций. В частности, высокая интенсивность и многообразие выполняемых гепатоцитами функций сопряжены с частыми перестройками метаболического аппарата, сопровождающимися дифференциальной активацией клеточного генома для обеспечения синтеза новых структурных и каталитических белков. При этом вовлечение кислых нуклеаз обеспечивает реутилизацию отработанных матриц белков (мРНК), рибосом, тРНК цитоплазмы. У костистых рыб в печени рассеяны участки экзокринной ткани поджелудочной железы [Аминева, Яржомбек, 1984], поэтому повышенное количество лизосом в печени и, как следствие, высокая активность лизосомальных ферментов могут быть обусловлены участием в процессах регуляции секреции – кринофагии [Покровский, Крыстев, 1977].

В настоящей работе изучалась динамика активности основных лизосомальных протеиназ (катепсинов В и D) и нуклеаз (РНказы, ДНКазы) в целом организме, скелетных мышцах и печени разновозрастной молоди лосося, отловленной в р. Индера (Кольский п-ов, Терский берег Белого моря), в процессах раннего развития и смолтификации.

Таблица 1. Размерно-весовые характеристики молоди лосося *Salmo salar* L. разных возрастов

Показатели	Возраст				
	0+ сеголетки	1+ пестрятки	2+ пестрятки	2+ смолты	3+ смолты
Длина тела, см	2,8 ± 0,10	6,1 ± 0,3	10,8 ± 0,4	11,9 ± 0,6	14,0 ± 0,2
Масса тела, г	0,16 ± 0,1	1,5 ± 0,1	10,8 ± 0,6	13,5 ± 0,4	21,0 ± 0,5
<i>n</i>	5	7	5	7	5

Материалы и методы

При проведении исследований использовались субстраты протеиназ и нуклеаз и химические вещества, произведенные Sigma-Aldrich (США); приборы ЦКП ИО ИБ КарНЦ РАН: гомогенизатор Tissue Lyser LT (Qiagen, Германия), центрифуга Allegra 64R Beckman Coulter (США), термостатирующая водяная баня УТ-4334 (Россия), спектрофотометр СФ-2000 (ЗАО «ОКБ-Спектр», Россия).

Отлов молоди лосося разных возрастов проводили с помощью аппарата электролова Fa-2 (Норвегия) [Нефедова и др., 2014] на пороговых и перекатных участках реки Индера в середине июня (температура воды 11,5 °С) (рис. 1).

Отбирали молодь лосося разных возрастов: 0+ (сеголетки), 1+ и 2+ (пестрятки), 2+ и 3+ (смолты). После вылова молодь выдерживали в течение суток в садках, затем помещали в жидкий азот и транспортировали в лабораторию для дальнейших биохимических исследований. Следует заметить, что поскольку сеголетки имеют сравнительно небольшие размеры и вес, их брали на биохимический анализ целиком, а у пестряток и смолтов масса тела

и размеры позволяли отделить мышцы и печень. Данные о длине и массе тела исследуемой молоди лосося приведены в таблице 1.

Количественное содержание растворимого белка в тканях (мг/г ткани) определяли по методу М. Бредфорда [Bradford, 1976], используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин.

Определение активности лизосомальных ферментов

Активность лизосомальных протеиназ. Гомогенизацию образцов проводили в соотношении 1:9 (вес/об.) в растворе 0,25 М сахарозы с добавлением 0,1% Тритона X-100 (Merck) (1200 об./мин, 60 с) и последующего центрифугирования (10 000 г, 30 мин). В супернатанте определяли активность цистеиновой протеиназы лизосом – катепсина В (КФ 3.4.22.1) по расщеплению 0,065 М раствора этилового эфира гидрохлорида N-бензоил L-аргинина в 0,1 М ацетатном буфере (рН 5,0) [Matsuda, Misaka, 1974] и аспартатной протеиназы лизосом – катепсина D (КФ 3.4.23.5) по гидролизу 1%-го бычьего гемоглобина в 0,1 М ацетатном буфере (рН 3,6) согласно модифицированному

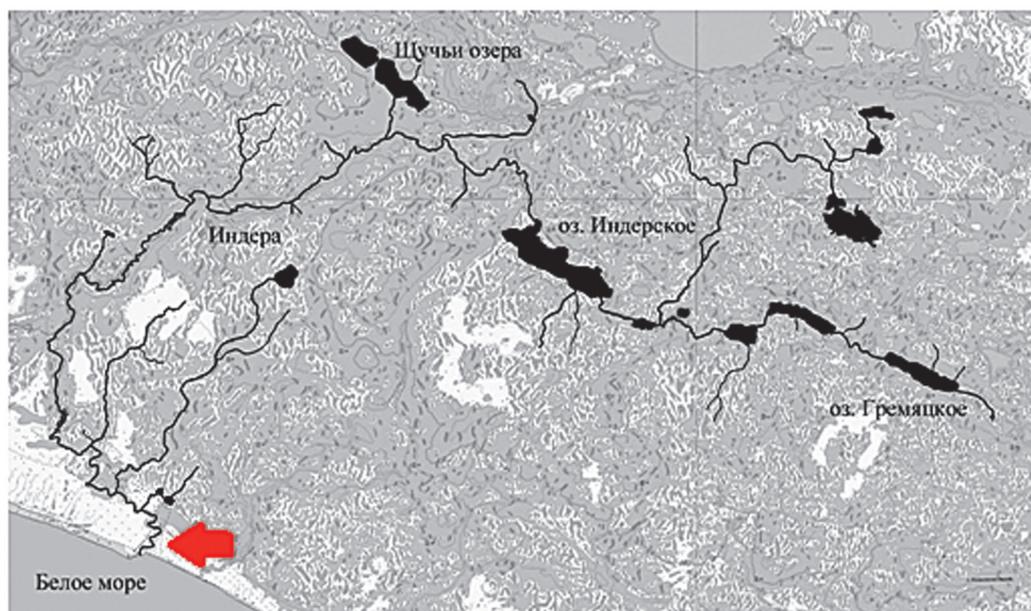


Рис. 1. Спутниковая фотография р. Индера (из Google Earth)

методу Ансона [Barrett, Heath, 1977]. Активность протеиназ (ед. акт.) выражали в единицах изменения оптического поглощения при E_{525} и E_{280} соответственно на 1 мг белка за 1 ч инкубации (37 °С).

Активность лизосомальных нуклеаз – РНКазы (КФ 3.1.4.23) и ДНКазы (КФ 3.1.4.6) – определяли по методам А. П. Левицкого и др. [1973] и А. А. Покровского с соавт. [Покровский, Арчаков, 1968]. Субстратами служили 0,1%-е растворы РНК и ДНК на 0,2 М растворе ацетатного буфера (рН 5,2 и 5,0 соответственно). Принцип методов основан на способности нуклеаз расщеплять соответствующие нуклеиновые кислоты на низкомолекулярные фрагменты, количество которых определяли спектрофотометрически при 260 нм после осаждения нерасщепленных нуклеиновых кислот и их крупных фрагментов 0,5 М раствором хлорной кислоты и 0,25%-м раствором уранилацетата в 0,5 М растворе хлорной кислоты (для ДНК и РНК соответственно). Активность ферментов выражали в условных единицах ΔD_{260} в расчете на 1 мг белка за единицу времени.

Полученные данные обработаны статистически с помощью Microsoft Office Excel 2007. Результаты представлены в виде средних и их ошибок ($M \pm m$). Достоверность различий оценивали по непараметрическому критерию *U* Вилкоксона – Манна – Уитни при уровне значимости $p \leq 0,05$ [Гублер, Генкин, 1969].

Результаты и обсуждение

Существенных различий в содержании белка в скелетных мышцах молоди лосося разных

возрастов не было обнаружено, в то время как в печени содержание белка было сравнительно высоким у пестряток возраста до 2+, а затем оно снижалось у смолтов возраста 2+ к уровню смолтов возраста 3+ (рис. 2).

Результаты исследования динамики активности лизосомальных гидролаз (протеиназ и нуклеаз) у молоди лосося различных возрастов представлены в таблице 2.

У цельных личинок (сеголеток 0+) активность лизосомальных протеиназ сравнительно высока. Обращает на себя внимание высокая активность катепсина В в мышцах смолтов возраста 3+ (вдвое выше, чем у сеголеток, и почти в четыре раза выше, чем в мышцах смолтов возраста 2+). Активность катепсина D в печени всех исследуемых возрастов молоди лосося относительно низка по сравнению со значениями, полученными для сеголеток. В мышцах разновозрастной молоди лосося активность катепсина D имеет очень низкие значения или вовсе не обнаружена. Активность катепсина В имеет максимальные значения в органах смолтов возраста 3+, готовых к скату в море. Данные по динамике активности лизосомальных нуклеаз свидетельствуют о наличии зависимости между уровнем активности изученных гидролаз и возрастом молоди рыб (табл. 2). Так, активность лизосомальной РНКазы в печени молоди лосося линейно возрастала при переходе от пестряток (1+, 2+) к смолтам (2+, 3+). В мышцах пестряток возраста 2+ активность РНКазы немного снижалась, а у смолтов с возрастом наблюдалось увеличение активности РНКазы. Аналогичные зависимости отмечались и для кислой ДНКазы. При этом

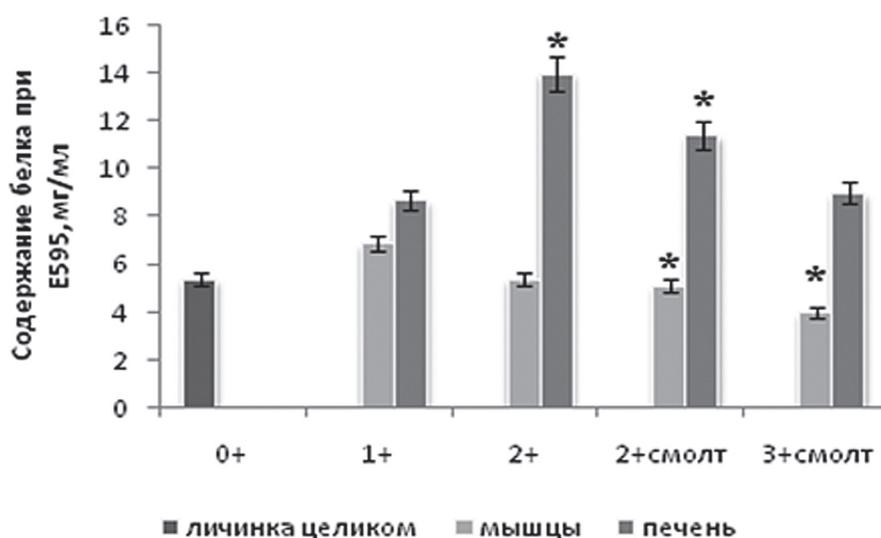


Рис. 2. Содержание белка у молоди 0+, 1+ и 2+ (пестрятки), 2+ и 3+ (смолты) лосося из р. Индера. *Статистически достоверные отличия ($p \leq 0,05$) по сравнению с возрастной группой 1+

Таблица 2. Активность лизосомальных гидролаз (катепсинов и нуклеаз) у молоди лосося разных возрастов из р. Индера ($n = 5$)

Орган	Возраст	Активность ферментов, ед. акт.			
		Катепсин В	Катепсин D	Кислая РНКазы	Кислая ДНКазы
Личинка целиком	0+	1,00 ± 0,10	0,55 ± 0,09	1,47 ± 0,05	0,92 ± 0,11
печень	1+	0,70 ± 0,00	0,29 ± 0,00	1,01 ± 0,00	0,48 ± 0,00
	2+	0,30 ± 0,10*	0,11 ± 0,03*	1,28 ± 0,09*	0,62 ± 0,06*
	2+ смолт	0,50 ± 0,02	0,24 ± 0,04	1,86 ± 0,10*	0,88 ± 0,05*
	3+ смолт	0,80 ± 0,02	0,20 ± 0,06*	1,87 ± 0,09*	1,12 ± 0,02*
мышцы	1+	0,90 ± 0,06	0,01 ± 0,01	1,17 ± 0,06	0,82 ± 0,08
	2+	0,80 ± 0,06*	0,00 ± 0,00	0,96 ± 0,04*	0,74 ± 0,05*
	2+ смолт	0,50 ± 0,08	0,03 ± 0,00	1,44 ± 0,13*	1,14 ± 0,07*
	3+ смолт	2,10 ± 0,07*	0,004 ± 0,00	1,47 ± 0,04*	1,29 ± 0,15*

Примечание. *Результаты достоверны при $p \leq 0,05$.

абсолютные значения РНКазной активности в печени были в среднем в два раза выше, чем ДНКазной, а в мышцах активность РНКазы была на 43, 25 и 13 % выше, чем ДНКазы, у молоди возраста 1+, 2+ (пестрятки и смолты) и 3+ соответственно.

В настоящей работе, как и в ранее проведенных исследованиях на молоди лосося из р. Варзуга [Вдовиченко и др., 2015; Немова и др., 2015] и на молоди кумжи из р. Ольховка [Немова и др., 2016], показано, что наиболее интенсивный рост молоди лососевых рыб происходит в первый год жизни. Так, масса тела сеголеток лосося из р. Индера составляла менее одного грамма (0,16 г), а пестряток возраста 1+ – 1,5 г. В дальнейшем также отмечен рост массы тела, хотя и менее интенсивный. Аналогичная динамика прослеживается и для длины тела молоди лосося – увеличение ее от 2,8 см в возрасте 0+ до 6,1 см в возрасте 1+. Ранее было показано, что наибольшая изменчивость линейного и весового роста балтийского лосося приходится на первый год речной жизни и первый год выхода в море [Никольский, 1980]. Столь интенсивный процесс роста у рыб, в ходе которого происходит преобразование пищевых веществ и энергии, имеет некоторые особенности, связанные с его недетерминированностью, в основе которой лежит преобладание синтетических процессов над катаболическими на протяжении всего жизненного цикла [Hochachka, Somero, 2002; Bureau et al., 2006; Lysenko et al., 2015]. Можно полагать, что в метаболические превращения белков и нуклеиновых кислот в процессе роста и развития молоди лосося наряду с другими ферментами вовлечены и лизосомальные гидролазы, активные при кислых значениях pH. Известно, что в процессах биосинтеза белка важную роль играют нуклеиновые кислоты, в метаболизме которых участвуют и лизосомальные нуклеазы,

осуществляющие гидролитическое расщепление межнуклеотидных фосфодиэфирных связей в их молекулах [Покровский, Тутельян, 1976; Высоцкая, Немова, 2008; Pizzo et al., 2008]. Продукты расщепления используются для построения новых нуклеиновых кислот, участвующих в биосинтезе белковых веществ, необходимых на новом этапе развития. Для класса костистых (*Teleostei*) рыб, в том числе лососевых (*Salmonidae*), интенсивность белковой деградации служит регуляторным фактором недетерминированного роста рыб, т. е. синтезированные белки используются не только для построения структур и тканей молоди, но и выполняют каталитическую и регуляторную функцию в организме. Обнаруженный в исследовании высокий уровень активности изученных лизосомальных ферментов рыб у сеголеток (0+) лосося, скорее всего, связан с обеспечением «строительными блоками» биосинтетических процессов накопления белка, необходимого для последующих структурных преобразований растущей молоди в период, когда завершается эндогенное питание и начинается переход на смешанное питание (при повышении температуры воды выше 11 °С, июнь, 500 градусо-дней). Для дальнейшего развития молоди лосося, по-видимому, очень важен интенсивный протеолиз именно в самом начале постэмбрионального развития, после выклева личинок из оболочек, когда молодь должна адаптироваться к изменению среды, и те особи, которые расселяются в биотопы с так называемыми «благоприятными» для роста и развития условиями [Nemova et al., 2015]. В процессе дальнейшего развития молоди лосося (2+ пестрятки, 2+, 3+ смолты) на фоне повышения активности кислых нуклеаз активность катепсинов несколько снижается в печени, а в скелетных мышцах практически не обнаруживается. Показано, что рост

и увеличение размеров и массы молоди лососевых связаны обратной зависимостью с активностью катепсина D в их мышцах. Снижение активности основного фермента лизосом, с которым связывают полную деградацию белковой молекулы до аминокислот и пептидов [Дин, 1980] при смолтификации, согласуется с данными литературы о том, что в мышцах смолтов атлантического лосося *S. salar* наблюдается активизация синтетических процессов и супрессия белкового катаболизма [Seear et al., 2010], направленные на ускорение прироста массы особей и накопление резервных веществ, включая структурные белки скелетных мышц. Обнаруженная сравнительно высокая активность катепсина B (протеиназы лизосом с регуляторной функцией) и нуклеаз у молоди лосося более старших возрастов (3+ смолты) отражает роль этих ферментов в процессах подготовки молоди к смолтификации и переходу в морскую среду. Смолты приобретают способность к осморегуляции в гипертонической среде, происходит увеличение Na^+ , K^+ -АТФазной активности, усиливается азотистый и жировой обмен [Шустов, 1983; McCormick et al., 1998]. Биохимические, морфологические и поведенческие изменения у молоди лосося в период смолтификации связаны с их подготовкой к новым условиям обитания.

Результаты исследований активности лизосомальных протеиназ и нуклеаз позволяют сделать вывод о том, что исследованные ферменты функционируют в процессах роста и развития молоди лосося взаимосвязанно, хотя и разнонаправленно, в зависимости от соотношения активизации/супрессии синтетических и катаболических процессов. Катепсины и нуклеазы катализируют деградацию выполнивших свои функции биополимеров, тем самым обеспечивая организм компонентами, участвующими в биосинтезе необходимых на начальном этапе развития белковых веществ. Синтезированные белки используются не только для построения структур и тканей молоди рыб, но и выполняют каталитическую и регуляторную функции в организме. Полученные данные позволяют предположить, что условия обитания в реке Индера являются достаточно благоприятными и способствуют ускоренному темпу роста молоди атлантического лосося. Динамика активности лизосомальных протеиназ и нуклеаз может рассматриваться как дополнительный биохимический критерий оценки состояния молоди атлантического лосося после выхода личинок из нерестовых гнезд и последующего их роста, развития, формирования смолтов, способных к последующей миграции для нагула в море.

Вылов и исследования лососевых видов рыб (атлантический лосось) проведены в соответствии с разрешением Федерального агентства по рыболовству Баренцево-Беломорского территориального управления № 51 2015 03 0119.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 14-24-00102 «Лососевые рыбы Северо-Запада России: эколого-биохимические механизмы раннего развития».

Литература

- Аминева В. А., Яржомбек А. А. Физиология рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. 200 с.
- Вдовиченко Е. А., Высоцкая Р. У., Ефремов Д. А., Веселов А. Е. Активность лизосомальных нуклеаз у молоди лосося *Salmo salar* L. разных возрастных групп // Труды КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. № 11. 2015. С. 92–98. doi: 10.17076/eb239
- Веселов А. Е., Калюжин С. М. Экология, поведение и распределение молоди атлантического лосося. Петрозаводск: Карелия, 2001. 160 с.
- Высоцкая Р. У., Немова Н. Н. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. М.: Наука, 2008. 284 с.
- Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях. М.: Медицина, 1969. 29 с.
- Дин Р. Процессы распада в клетке. М.: Мир, 1980. 120 с.
- Казаков Р. В., Веселов А. Е. Атлантический лосось // Популяционный фонд атлантического лосося России. СПб.: Наука, 1998. С. 383–395.
- Левицкий А. П., Барабаш П. Д., Коновец В. М. Сезонные особенности активности рибонуклеазы и α -амилазы слюны и слюнных желез у крыс линии Вистар // Биохимическая эволюция. Л.: Наука, 1973. С. 192–195.
- Немова Н. Н., Крупнова М. Ю., Ефремов Д. А., Веселов А. Е. Активность лизосомальных протеиназ (катепсинов B и D) в мышцах молоди (0+, 1+ 2+) атлантического лосося из р. Варзуга // Труды КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология. № 11. 2015. С. 85–91. doi: 10.17076/eb237
- Немова Н. Н., Крупнова М. Ю., Вдовиченко Е. А. и др. Активность лизосомальных гидролаз молоди кумжи (*Salmo trutta* L.) из приполярной реки Ольховка // Ученые записки ПетрГУ. Биологические науки. 2016. № 4 (157). С. 7–12.
- Нефедова З. А., Мурзина С. А., Веселов А. Е. и др. Разнокачественность липидных и жирнокислотных спектров у сеголеток атлантического лосося *Salmo salar* L., различающихся размерно-весовыми характеристиками // Сибирский экологический журнал. № 4. 2014. С. 639–645.
- Никольский Г. В. Структура вида и закономерности изменчивости рыб. М.: Пищ. пром., 1980. 184 с.
- Покровский А. А., Арчаков А. И. Методы разделения и ферментной идентификации субклеточных

фракций // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1968. С. 5–59.

Покровский А. А., Крыстев Л. П. Печень, лизосомы и питание. София, 1977. 208 с.

Покровский А. А., Тутьельян В. А. Лизосомы. М.: Наука, 1976. 351 с.

Спирин А. С. Биосинтез белков, мир РНК и происхождение жизни // Вестник Российской академии наук. 2001. Т. 71, № 4. С. 320–328.

Шустов Ю. А. Экология молоди атлантического лосося. Петрозаводск: Карелия, 1983. 152 с.

Barrett A. J., Heath M. Lysosomal enzymes // In: Dingle J. T. (ed.). Lysosomes. A laboratory handbook. Amsterdam, 1977. P. 19–27.

Bashan A., Yonath A. Correlating ribosome function with high-resolution structures // Trends in Microbiology. 2008. Vol. 16, no. 7. P. 326–335. doi: 10.1016/j.tim.2008.05.001

Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analit. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

Bureau D., Hua K., Cho C. Y. Effect of feeding level on growth and nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) growing from 150 to 600 g // Aquac. Res. 2006. Vol. 37. P. 1090–1098.

Hoilhan D. E., Carter C. G., McCarthy L. D. Protein synthesis in fish // In Biochemistry and Molecular Biology of fishes (eds. Hochachka P., Mommsem T.) Amsterdam: Elsevier. Chapter 8. 1995. Vol. 4. P. 62–75.

References

Amineva V. A., Yarzhombek A. A. Fiziologiya ryb [Physiology of fishes]. Moscow: Legkaya i pishhevaya promyshlennost', 1984. 200 p.

Vdovichenko E. A., Vysotskaya R. U., Efremov D. A., Veselov A. E. Aktivnost' lizosomalnykh nukleaz u molodi lososya *Salmo salar* L. raznykh vozrastnykh grupp [The activity of lysosomal nucleases in different age groups of juvenile *Salmo salar* L. salmon]. *Trudy KarNTs RAN [Trans. of KarRC of RAS]*. 2015. No. 11. P. 92–98. doi: 10.17076/eb239

Veselov A. E., Kalyuzhin S. M. Ekologiya, povedenie i raspredelenie molodi atlanticheskogo lososya [Ecology, behavior and distribution of juvenile Atlantic salmon]. Petrozavodsk: Kareliya, 2001. 160 p.

Vysotskaya R. U., Nemova N. N. Lizosomy i lizosomal'nye fermenty ryb [Fish lysosomes and lysosomal enzymes]. Moscow: Nauka, 2008. 284 p.

Gubler E. V., Genkin A. A. Primenenie kriteriev neparаметрической статистики для отsenki razlichiy dvukh grupp nablyudenyi v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh [Application of nonparametric statistics criteria to assess the differences between two groups of observations in biomedical research]. Moscow: Meditsina, 1969. 29 p.

Din R. Protsessy raspada v kletke [Decay processes in cells]. Moscow: Mir, 1980. 120 p.

Kazakov R. V., Veselov A. E. Atlanticheskii losos [The Atlantic salmon]. Populyatsionnyy fond atlantiche-

Hochachka P. W., Somero G. N. Biochemical adaptation / mechanisms and process in physiological evolution, 2nd edition // Oxford University Press, New York. 2002. 466 p.

Lysenko L., Kantserova N. P., Krupnova M. Yu., Nemova N. N. Protein degradation systems in the control of salmonid fish growth // Protein Science. Special Issue: The 29th Annual Symposium of the Protein Society, Barcelona, Spain, July 22–25, 2015. Vol. 24, iss. S1. P. 262.

Matsuda K., Misaka E. Studies on cathepsins of rat liver lysosomes. I. Purification and multiple forms // J. Biochem. 1974. Vol. 76, no. 3. P. 639–649.

McCormick S. D., Hansen L. P., Quinn T. P., Saunders R. L. Movement, migration, and smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. Vol. 55, suppl. 1. 1998. P. 77–92. doi: 10.1139/d98-011

Nemova N. N., Pavlov D. S., Veselov A. E. et al. The activity of intracellular proteolytic enzymes in Atlantic salmon young-of-the-year from various habitats in the Varzuga River (White Sea basin). SEB. Animal main meetings. Prague, 2015. P. 10.

Pizzo E., Varcamonti M., Maro A. D. et al. Ribonucleases with angiogenic and bactericidal activities from the Atlantic salmon // FEBS Journal. 275. 2008. P. 1283–1295. doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06289.x

Seear P., Carmichael S., Talbot R. et al. Differential gene expression during smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): a first large-scale microarray study. *Mar Biotechnol* (2010) 12:126–140.

Поступила в редакцию 20.07.2016

skogo lososya Rossii [Population's Fund of Atlantic Salmon in Russia]. St. Petersburg: Nauka, 1998. P. 383–395.

Levitskiy A. P., Barabash R. D., Konovets V. M. Sezonnaya osobennost' aktivnosti ribonukleazy i α -amilazy slyuny i slyunnykh zhelez u krysi linii Vistar [Seasonal characteristics of ribonuclease and α -amylase activity of saliva and salivary glands of Wistar rats]. *Biokhimičeskaya evolyutsiya [Biochemical Evolution]*. Leningrad: Nauka, 1973. P. 192–195.

Nemova N. N., Krupnova M. Yu., Efremov D. A., Veselov A. E. Aktivnost' lizosomal'nykh proteinaz (katepsinov B i D) v myshtsakh molodi (0+, 1+, 2+) atlanticheskogo lososya iz r. Varzuga [The activity of lysosomal proteases (cathepsins B and D) in the muscles of juvenile (0+, 1+, 2+) Atlantic salmon from the Varzuga River]. *Trudy KarNTs RAN [Trans. of KarRC of RAS]*. 2015. No. 11. P. 85–91. doi: 10.17076/eb237

Nemova N. N., Krupnova M. Yu., Vdovichenko E. A., Efremov D. A., Veselov A. E. Aktivnost' lizosomalnykh gidrolaz u molodi kumzhi (*Salmo trutta* L.) iz pripolyarnoi reki Ol'khovka [The activity of lysosomal hydrolases in juvenile trout (*Salmo trutta* L.) from the subpolar Olkhovka River]. *Uch. Zap. PetrGU. Biologicheskie nauki [Proceedings of Petrozavodsk State University. Biological Sciences]*. No. 4 (157). 2016. P. 7–12.

Nefedova Z. A., Murzina S. A., Veselov A. E., Ripatti P. O., Nemova N. N. Raznokachestvennost' lipidnykh

i zhirnokislотноykh spektrov u segoletok atlanticheskogo lososya *Salmo salar* L., razlichayushchikhsya razmernovosovymi kharakteristikami [Heterogeneity of lipids and fatty acids of fingerlings of the Atlantic salmon *Salmo salar* L. different in weight and size]. *Sibirskii ekologicheskii zhurnal [Siberian Journal of Ecology]*. No. 4. 2014. P. 639–645.

Nikolskij G. V. Struktura vida i zakonomernosti izmenchivosti ryb [Species structure and regularities of fish variability]. Moscow: Pishhevaya prom., 1980. 184 p.

Pokrovskiy A. A., Archakov A. I. Metody razdeleniya I fermentnoy identifikatsii subkletochnykh fraktsiy [Methods of separation and enzymatic identification of subcellular fractions]. *Sovremennye metody v biokhimi [Modern Methods in Biochemistry]*. Moscow: Meditsina, 1968. P. 5–59.

Pokrovskiy A. A., Krystev L. P. Pechen, lizosomy i pitanie [Liver, lysosomes and nutrition]. Sofiya, 1977. 208 p.

Pokrovskiy A. A., Tutel'yan V. A. Lizosomy [Lysosomes]. Moscow: Nauka, 1976. 351 p.

Spirin A. S. Biosintez belkov, mir RNK i proiskhozhdenie zhizni [Protein biosynthesis, the RNA world and the origin of life]. *Vest. RAN [Herald of the Russian Academy of Sciences]*. 2001. Vol. 71, no. 4. P. 320–328.

Shustov Yu. A. Ekologiya molodi atlanticheskogo lososya [Ecology of juvenile Atlantic salmon]. Petrozavodsk: Kareliya, 1983. 152 p.

Barrett A. J., Heath M. Lysosomal enzymes. In: Dingle J. T. (ed.). *Lysosomes. A laboratory handbook*, Amsterdam. 1977. P. 19–27.

Bashan A., Yonath A. Correlating ribosome function with high-resolution structures. *Trends in Microbiology*. Vol. 16, no. 7. 2008. P. 326–335. doi: 10.1016/j.tim.2008.05.001

Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analit. Biochem.* 1976. Vol. 72. P. 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3

Bureau D., Hua K., Cho C. Y. Effect of feeding level on growth and nutrient deposition in rainbow trout

(*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) growing from 150 to 600 g. *Aquac. Res.* 2006. Vol. 37. P. 1090–1098.

Hoiilhan D. E., Carter C. G., McCarthy L. D. Protein synthesis in fish. In *Biochemistry and Molecular Biology of fishes* (eds. P. Hochachka, T. Mommsem). Amsterdam: Elsevier. Chapter 8. 1995. Vol. 4. P. 62–75.

Hochachka P. W., Somero G. N. Biochemical adaptation mechanisms and process in physiological evolution, 2nd edition. Oxford University Press, New York. 2002. 466 p.

Lysenko L., Kantserova N. P., Krupnova M. Yu., Nemova N. N. Protein degradation systems in the control of salmonid fish growth. *Protein Science*. Special Issue: The 29th Annual Symposium of the Protein Society, Barcelona, Spain, July 22–25, 2015. Vol. 24, iss. S1. P. 262.

Matsuda K., Misaka E. Studies on cathepsins of rat liver lysosomes. I. Purification and multiple forms. *J. Biochem.* 1974. Vol. 76, no. 3. P. 639–649.

McCormick S. D., Hansen L. P., Quinn T. P., Saunders R. L. Movement, migration, and smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* Vol. 55. Suppl. 1. 1998. P. 77–92. doi: 10.1139/d98-011

Nemova N. N., Pavlov D. S., Veselov A. E., Kaivarainen E. I., Krupnova M. Yu. The activity of intracellular proteolytic enzymes in Atlantic salmon young-of-the-year from various habitats in the Varzuga River (White Sea basin). SEB. Animal main meetings. Prague, 2015. P. 10.

Pizzo E., Varcamonti M., Maro A. D., Zanfardino A., Giancola C., D'Alessio G. Ribonucleases with angiogenic and bactericidal activities from the Atlantic salmon. *FEBS Journal*. 275. 2008. P. 1283–1295. doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06289.x

Seear P., Carmichael S., Talbot R., Taggart J., Bron J., Sweeney G. Differential gene expression during smoltification of atlantic salmon (*Salmo salar* L.): a first large-scale microarray study. *Mar Biotechnol* (2010) 12:126–140.

Received July 20, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Крупнова Марина Юрьевна

старший научный сотрудник лаб. экологической биохимии, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: mukrupnova@rambler.ru
тел.: (8142) 571879

Вдовиченко Елизавета Андреевна

младший научный сотрудник
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: elizaveta.vdovichenko@gmail.com
тел.: (8142) 571879

CONTRIBUTORS:

Krupnova, Marina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: mukrupnova@rambler.ru
tel.: (8142) 571879

Vdovichenko, Elizaveta

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: elizaveta.vdovichenko@gmail.com
tel.: (8142) 571879

Высоцкая Римма Ульяновна

главный научный сотрудник, д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: rimma@bio.karelia.ru
тел.: (8142) 571879

Ефремов Денис Александрович

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: denisefremov@list.ru
тел.: (8142) 571679

Веселов Алексей Елпидифорович

главный научный сотрудник, д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: veselov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 571679

Немова Нина Николаевна

директор, чл.-корр. РАН, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nemova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 783615

Vysotskaya, Rimma

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: rimma@bio.karelia.ru
tel.: (8142) 571879

Efremov, Denis

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: denisefremov@list.ru
tel.: (8142) 571679

Veselov, Aleksey

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: veselov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 571679

Nemova, Nina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: nemova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 783615