

УДК 597.551.2-131+57.037

БІОФІЗИКА КЛІТИНИ

КІНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ Na^+ , K^+ -АТФАЗИ КЛІТИН ЗАРОДКІВ В'ЮНА

М. В. Целевич, С. М. Мандзинець, Д. І. Санагурський

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського 4, 79005, Львів, Україна
e-mail: biofiz@franko.lviv.ua; mcelevysh@yahoo.com

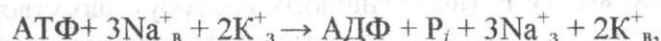
Надійшла до редакції 9 червня 2008 р.

Досліджено кінетичні властивості Na^+ , K^+ -АТФази зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. упродовж раннього ембріогенезу (від стадії 2 бластомерів до стадії 10 поділу бластомерів). Залежність активності Na^+ , K^+ -АТФази зародкових клітин від концентрації АТФ є двофазною, практично на усіх досліджуваних стадіях розвитку, а це у свою чергу пов'язано з підвищення інтенсивності експресії молекул ферменту упродовж ембріонального розвитку зародків. У координатах Лайнуверка-Берка розраховані константи Міхаеліса-Ментен по АТФ для Na^+ , K^+ -АТФази плазматичної мембрани зародків. Згідно отриманих K_m для молекул Na^+ , K^+ -АТФази зародкових клітин упродовж досліджуваних стадій ембріогенезу характерні каталітичні центри з низькою ($K_m \approx 2,7$ мМ) спорідненістю до АТФ, зв'язування останнього з цими центрами прискорює каталітичний цикл молекул мембранозв'язаного ферменту зародків. Одержані експериментальні дані доцільно застосовувати з метою подальшого з'ясування молекулярних та мембранних механізмів підтримання внутрішньоклітинного іонного гомеостазу зародків упродовж ембріогенезу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: Na^+ , K^+ -АТФаза, константа Міхаеліса-Ментен (K_m або K_{ATP}), зародки в'юна, дроблення бластомерів, ембріогенез

Стан внутрішньоклітинного іонного гомеостазу тісно пов'язаний з енергетичним обміном практично всіх біохімічних, біофізичних та фізіологічних процесів. Тому нагальними є подальші дослідження властивостей, особливостей кінетичних процесів і регуляції мембранозв'язаних іонотранспортувальних систем як дорослого організму, особливо зародкового, а також у нормі та при патологічних станах. До однієї з таких систем належить натрієва помпа плазматичної мембрани (ПМ) – Na^+ , K^+ -АТФаза.

Na^+ , K^+ -активована, Mg^{2+} -залежна-АТФаза (АТФ-гідролаза, убаїнчутлива Na^+ , K^+ -АТФаза, Na^+ , K^+ -помпа, ЕС 3.6.1.37) – електрогенний Ca^{2+} -незалежний, Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФ-залежний транспортувальний білок ПМ, який здійснює енергозалежне і протилежно спрямоване перенесення одновалентних іонів Na^+ і K^+ (співвідношення 3:2), внаслідок чого електрохімічні градієнти підтримуються на рівні функціонування клітини у нормі:



Na^+ , K^+ -АТФаза належить до АТФаз Р-типу (Р₂-підтипу АТФаз). Структурною та функціональною основою Na^+ , K^+ -АТФази є α та β -субодиниці. Каталітичний центр і центри зв'язування Na^+ та K^+ локалізовані в α -субодиниці ферменту, що міститься в цитоплазмі [1-3]. У структурі Na^+ , K^+ -АТФази сперматозоїдів ідентифіковано унікальну $\alpha 4$ -субодиницю, інгібування експресії якої призводить до пригнічення їхньої рухливості [4]. При цьому, слід відзначити, що Na^+ , K^+ -АТФаза сперматозоїдів відіграє ключову роль як у забезпеченні їхньої рухливості [4], так і здатності до запліднення яйцеклітин [5].

Підтримання електрохімічних градієнтів, для нормального функціонування клітин, забезпечує електричну збудливість нервової і м'язової тканин, енергозабезпечення Na^+ -залежного вторинного активного транспортування іонів Ca^{2+} , протонів та глюкози; регуляцію клітинного об'єму та запуск апоптозу, передачу сигналу до ядра шляхом білок-білкових взаємодій з месенджерними білками [1, 6-9]. Доведено, що при деяких

патологічних станах організму значно змінюється активність натрієвої помпи, наприклад при діабеті та ішемії вона істотно знижується [10-12]. Na^+ , K^+ -АТФазі також належить важлива роль у забезпеченні функціональної активності скоротливих [13] та рухливих клітин репродуктивної системи – міоцитів матки і сперматозоїдів [3-4]. Відомо, що Na^+ , K^+ -помпа не тільки підтримує співвідношення Na^+/K^+ у цитоплазмі [14], а зумовлює збільшення рівня трансмембранного потенціалу (ТМП) [14-15] й відповідає за осмотичність бластоцелю зародків в ранньому розвитку в'юна [16]. Більше того, Гойдою з співавт. [14, 17-18] доведено, що активний транспорт іонів Na^+ та K^+ є одним із факторів, що зумовлюють коливний характер ТМП зародків в'юна протягом ембріогенезу.

Як і кожен фермент, Na^+ , K^+ -АТФаза характеризується кінетичними та каталітичними властивостями, з'ясування яких є необхідним для розуміння як закономірностей функціонування Na^+ , K^+ -помп за фізіологічних умов, так і механізму їх функцій при патологіях протягом ембріогенезу. Це в свою чергу матиме важливе і актуальне значення для подальшого розуміння ролі реакції Mg^{2+} -залежного ферментативного гідролізу АТФ у забезпеченні внутрішньоклітинного іонного гомеостазу зародків в ембріогенезі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) через 60, 150, 210, 270 і 330 хв після запліднення яйцеклітин під час стадій, які відповідають першому дробленню зиготи (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів) та десятому (512 бластомерів). Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру одержували через 36 год після стимуляції та запліднювали в чашках Петрі суспензією спермій за Нейфахом [19]. Стадії розвитку контролювали візуально під біноклярним мікроскопом МБС-9.

Мікросомальну фракцію мембран зародків одержували методом диференційного центрифугування у градієнті густини сахарози, як було описано у статті [20]. Перед початком експерименту аліквоти суспензії мембранного препарату переносили в стандартне середовище інкубації наступного складу (ммоль/л): NaCl –30,0; KCl –125,0; MgCl_2 – 3,0; *трис*-Cl – 50,0 (pH=7,4; t= 21°C). АТР-гідролазну реакцію ініціювали додаванням 3 ммоль/л АТФ та інкубували 15 хв при t = 21°C, а зупиняли додаванням 10% ТХО. Na^+ , K^+ -АТФазну активність визначали за різницею між вмістом P_i (неорганічного фосфату) у стандартному безкальцієвому середовищі при додаванні та за відсутності уабаїну (1 ммоль/л). Питому активність АТФазної системи зародків оцінювали за різницею вмісту P_i (неорганічного фосфору), що утворився в середовищі інкубації різного складу за наявності та відсутності фрагментів мембран з урахуванням поправки на вміст ендogenous P_i у мембранному препараті й виражали в мкмольях P_i у перерахунку за год на 1 мг білка. Кількість P_i визначали за методом Фіске-Суббароу [21].

Достовірність змін встановлювали за t-критерієм Стьюдента [22]. Визначення кінетичних параметрів гідролізу АТФ проводили з допомогою програми GraphPad Prism5. Обчислення лінеаризованих графіків проводили з використанням найменших квадратів (значення коефіцієнта кореляції г становило 0,90-0,99).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Відомо, що Na^+ , K^+ -АТФаза каталізує транспортування молекул натрію та калію крізь мембрану за гідролізу однієї молекули АТФ. Це спряжено зі зміною конформаційного стану молекули ферменту E_1 (висока спорідненість до АТФ і внутрішньоклітинних іонів Na^+) на E_2 (висока спорідненість до зовнішньоклітинних

Кінетичні характеристики Na⁺K⁺-АТФази клітин зародків в'юна.

іонів K⁺, відповідно низька спорідненість до іонів Na⁺) [1, 3, 6], унаслідок чого нуклеотрифосфат, як субстрат ферментативної реакції підвищує швидкість конфірмаційного переходу E₂→E₁, вивільнення трьох іонів Na⁺ у позаклітинне середовище і введення двох іонів K⁺ у клітину, та дефосфорилування ферментативної молекули. Ефективність перебігу фаз гідролітичного циклу роботи Na⁺, K⁺-АТФази, зростає в разі зв'язування АТФ з її регуляторним центром у вищих концентраціях, ніж ті, які необхідні для насичення каталітичного центру [2]. Отже, виходячи з сказаного, АТФ може регулювати функціонування АТ фаз внаслідок впливу на проміжні етапи самої каталітичної реакції.

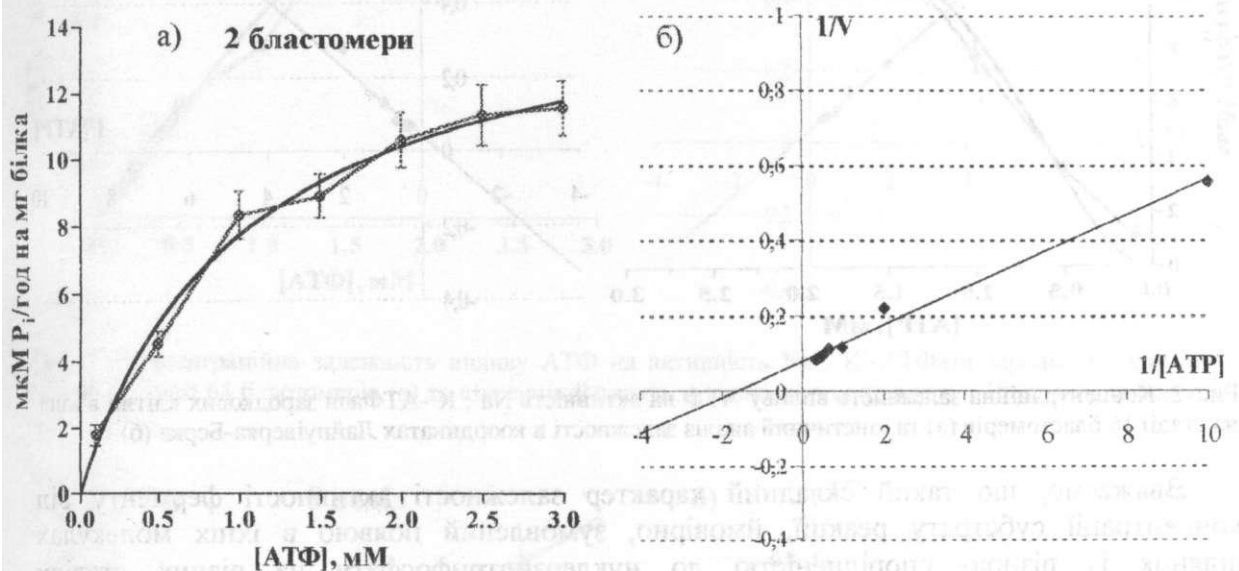


Рис. 1. Концентраційна залежність впливу АТФ на активність Na⁺, K⁺-АТФази зародкових клітин в'юна на стадії 2 бластомерів (а) та кінетичний аналіз залежності в координатах Лайнуівєрка-Берка (б).

Оскільки відомості стосовно регуляторного впливу АТФ на функціонування Na⁺, K⁺-АТФази ПМ зародкових клітин в'юна протягом раннього ембріогенезу практично відсутні, нами були проведені дослідження для з'ясування залежності активності АТФ-гідролази від субстрату реакції (концентрацію АТФ змінювали від 0,1 до 3 мМ) упродовж синхронних поділів бластомерів: від стадії першого поділу (2 бластомери) до 10 стадії поділу бластомерів (1026 бластомерів; рис. 1-5, а).

У результаті проведених досліджень встановлено, що залежність активності досліджуваної АТФази ПМ зародкових клітин від концентрації нуклеозидтрифосфату (у даному випадку АТФ) є двофазною, практично на усіх досліджуваних стадіях розвитку зародків (рис. 1-5, а). Підвищення концентрації АТФ у середовищі інкубації до 0,5 мМ спричинює поступове, досить стрімке зростання активності Na⁺, K⁺-АТФази ПМ зародків (рис. 2, а). Подальше збільшення рівня АТФ (до 1,5-2,0 мМ) вело до стрімкого зростання активності досліджуваного ферменту. Слід зазначити, що наступне збільшення концентрації нуклеозидтрифосфату в середовищі інкубації мікросомної фракції мембран на стадіях 2, 16, 64 бластомерів до 3 мМ не вело до достовірного зростання активності Na⁺, K⁺-АТФази. На 8 та 10 поділах, виявлено достовірне стрімке зростання активності Na⁺, K⁺-АТФази за умов додавання 2,0-3,0 мМ АТФ.

Крива залежності функціонування Na⁺, K⁺-АТФази ПМ зародкових клітин в'юна від рівня АТФ у середовищі інкубації дещо відмінна на досліджуваних стадіях розвитку зародків: спостерігається стрімке зростання її активності з підвищенням

концентрації АТФ до 1,5 мМ, вихід на плато (2, 16, 64 бластомерів, рис. 1-3, а) та подальше збільшення в діапазоні 2,0-3,0 мМ (8-10 поділи бластомерів, рис. 4-5).

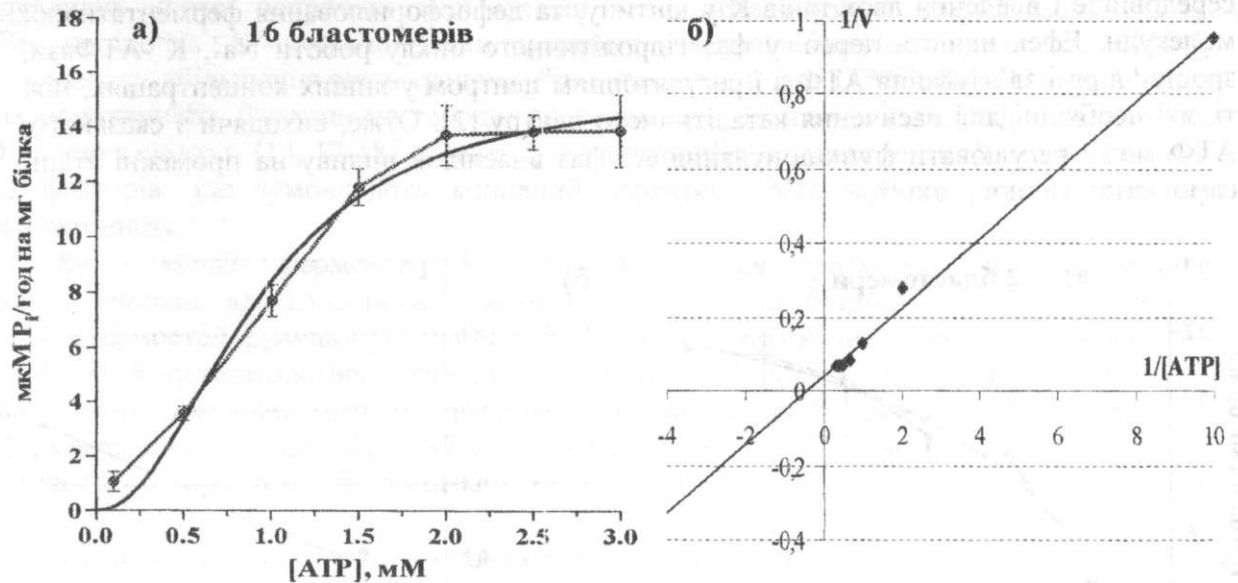


Рис. 2. Концентраційна залежність впливу АТФ на активність Na^+ , K^+ -АТФази зародкових клітин в'юна на стадії 16 бластомерів (а) та кінетичний аналіз залежності в координатах Лайнуіверка-Берка (б).

Вважаємо, що такий складний характер залежності активності ферменту від концентрації субстрату реакції, ймовірно, зумовлений появою в їхніх молекулах ділянок із різною спорідненістю до нуклеозидтрифосфату на різних стадіях ембріогенезу. Крім цього встановлено, що максимального значення на восьмій стадії поділу зародків в'юна досягає Na^+ , K^+ -АТФаза [23], як і уабайнрезистентна базальна Mg^{2+} -АТФаза зародків [24]. Припускають, що такі зміни активності мембранозв'язаних ферментів пов'язані з підвищення інтенсивності експресії молекул цих ферментів упродовж раннього ембріонального розвитку зародків (тобто перших годин розвитку).

Так при дослідженні характеру роботи Na^+ , K^+ -АТФази на зародках морських їжаків *Strongylocentrotus purpuratus* і *Litechinus pictus* [25], показано, що активність АТФ-гідролази для незаплідненої яйцеклітини та при заплідненні майже ідентична, а швидке зростання Na^+ , K^+ -АТФазної активності відбувається від стадії бластули до стадії ранньої гастрული, після чого залишається незмінною до стадії вилуплення. Подібні зміни Na^+ , K^+ -АТФазної активності до стадії ранньої гастрული описано й для іншого виду морського їжака *Hemicentrotus pulcherrimus* [26]. У кінці періоду синхронних поділів бластомерів (6-7 години розвитку) активуються макромолекулярні синтези, особливо масивний синтез нових мРНК [27], що вимагає значних енерговитрат і приводить до перерозподілу клітинних макроергів, з чим ймовірно й пов'язана відмінність ферментативної активності енергозалежних систем транспорту на цьому етапі розвитку у порівнянні із першими поділами бластомерів.

Шляхом лінеаризації одержаних кривих залежності активності Na^+ , K^+ -АТФази ПМ зародкових клітин в'юна від концентрації АТФ в середовищі інкубації у координатах Лайнуіверка-Берка визначено каталітичні параметри Na^+ , K^+ -активованого, Mg^{2+} -залежного гідролізу АТФ у мікросомній фракції мембран зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу (рис. 1-5, б).

Як випливає з таблиці 1, кінетичні характеристики V_{max} й K_m для Na^+ , K^+ -АТФази на різних стадіях поділу бластомерів децю відмінні. Значення K_m (або K_{ATP}) ферменту (див. табл. 1) протягом раннього ембріогенезу змінюється, що свідчить про різну його

Кінетичні характеристики Na^+K^+ -АТФази клітин зародків в'юна.

спорідненість до субстрату ферментативної реакції впродовж синхронних поділів бластомерів.

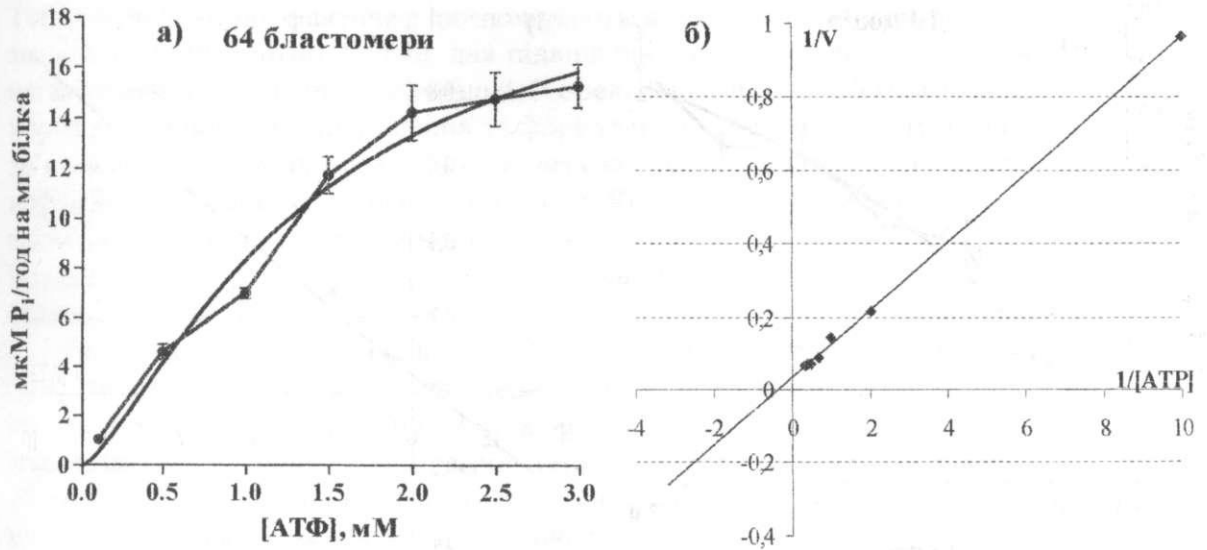


Рис. 3. Концентраційна залежність впливу АТФ на активність Na^+ , K^+ -АТФази зародкових клітин в'юна на стадії 64 бластомерів (а) та кінетичний аналіз залежності в координатах Лайнуівєрка-Берка (б).

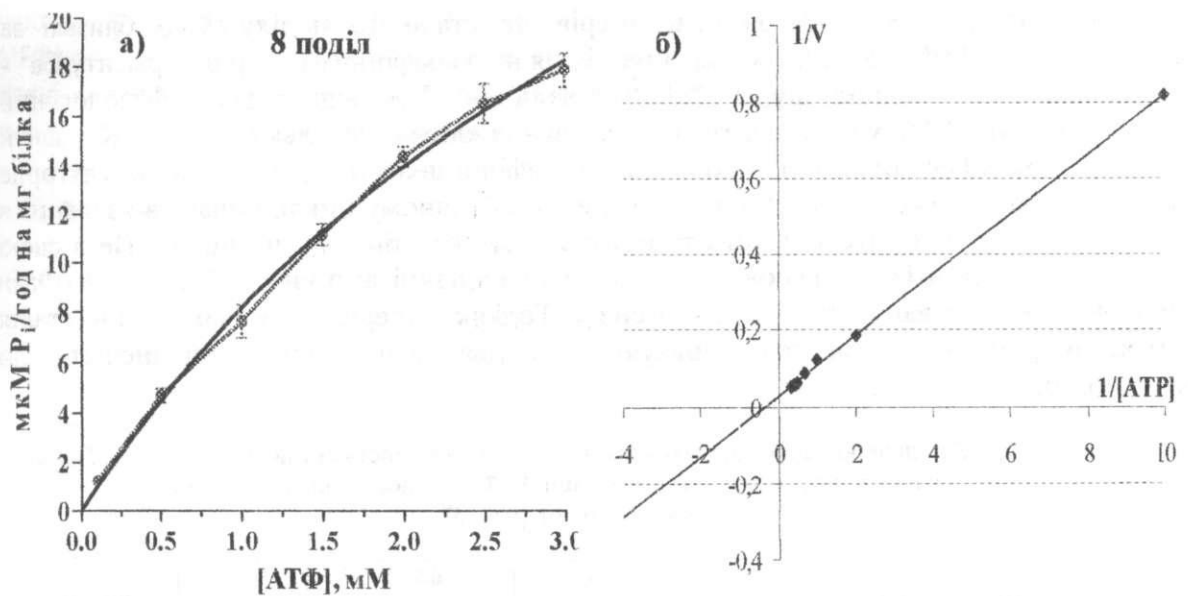


Рис. 4. Концентраційна залежність впливу АТФ на активність Na^+ , K^+ -АТФази зародкових клітин в'юна на 8 стадії поділу бластомерів (а) та кінетичний аналіз залежності в координатах Лайнуівєрка-Берка (б).

Якщо порівнювати K_m на перших і останніх синхронних поділах бластомерів, то спостерігається тенденція до зростання значень константи на більш пізніх стадіях поділу. Величини K_m знаходяться в діапазоні значень 10^{-3} моль/літр, що свідчить про не високу активність фермента на цих стадіях розвитку, оскільки відомо, що чим менше K_m , тим активніше фермент. А це в свою чергу, свідчить про тісний взаємозв'язок між процесами клітинного поділу та енергозалежним мембранозв'язаним транспортом. Оскільки впродовж перших годин розвитку всі клітинні макроерги витрачаються власне

на макромолекулярні синтези, які інтенсивно розпочинаються після запліднення яйцеклітини.

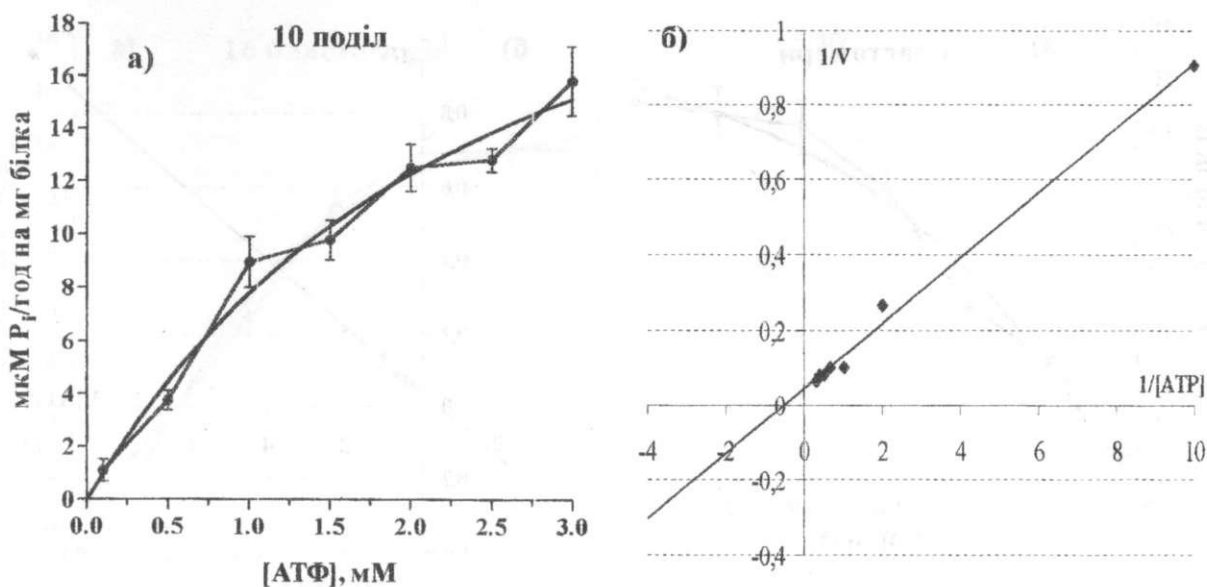


Рис. 5. Концентраційна залежність впливу АТФ на активність Na^+ , K^+ -АТФази зародкових клітин в'юна на 10 стадії поділу бластомерів (а) та кінетичний аналіз залежності в координатах Лайнуівєрка-Берка (б).

Однак на стадіях 16 й 64 бластомерів, та стадії 10 поділу $K_{ATФ}$ близькі за значеннями ($\approx 2,7$ мМ) до тих, які характерні для низькоафінних центрів ферменту Ca^{2+} -АТФаз ПМ клітин печінки щурів [28]. Такі величини $K_{ATФ}$ відповідають фізіологічній концентрації Mg-АТФ у цитоплазмі досліджуваних клітин, не тільки для Na^+ , K^+ -, але й для Ca^{2+} -АТФаз ПМ. Вважають, що такі низькоафінні центри мають більш регуляторне значення, і безпосередньо не беруть участі в каталітичному циклі, однак зв'язування з ними АТФ підвищує інтенсивність та ефективність перебігу етапів циклу. Це в свою чергу узгоджується із загальною тенденцією підвищенні активності Na^+ , K^+ -АТФази упродовж досліджуваних стадій ембріогенезу. Тоді як на перших поділах клітин (стадія 2 бластомерів) ці центри характеризуються в два рази вищою спорідненістю до субстрату реакції.

Таблиця 1. Каталітичні параметри, які характеризують залежність активності Na^+ , K^+ -АТФази зародкових клітин в'юна від концентрації АТФ на різних стадіях розвитку ($M \pm m$, $n=10$, $p>0,95$)

Каталітичні параметри	2	16	64	8 поділ	10 поділ
	бластомери	бластомерів	бластомери		
V_{max} , $\mu\text{M P}_i/\text{год на 1 мг білка}$	$16,01 \pm 1,58$	$25,56 \pm 3,91$	$30,63 \pm 4,87$	$47,86 \pm 7,70$	$28,88 \pm 5,28$
K_m , мМ	$1,06 \pm 0,27$	$2,10 \pm 0,62$	$2,70 \pm 0,75$	$4,85 \pm 1,13$	$2,71 \pm 0,87$

Отже, Na^+ , K^+ -АТФаза ПМ зародкових клітин в'юна характеризується досить низькою спорідненістю до АТФ (згідно визначених $K_{ATФ}$), це свідчать про наявність в молекулі ферменту відповідних каталітичних центрів. Зв'язування з ними нуклеозидтрифосфату регулює та прискорює каталітичний цикл молекул АТФаз. Не виключено, що впродовж раннього ембріогенезу зародків у молекулах ферментів наявні також високоафінні центри зв'язування з АТФ. Згідно отриманих значень їх

Кінетичні характеристики Na⁺K⁺-АТФази клітин зародків в'юна.

кількість незначна, однак вони ймовірно переважають на самих перших поділах бластомерів (тобто активуються в перші хвилини після запліднення). У цих центрах проходить асоціація комплексу Mg•АТФ і фосфорилування молекули ферменту. Тобто з їх участю фактично розпочинаються усі макромолекулярні процеси після запліднення яйцеклітин. Однак, для підвищення швидкості перебігу проміжних етапів каталітичної реакції та максимальної ефективної роботи АТФази, необхідних для нормального проходження поділів та формування все нових бластомерів, необхідним є зв'язування субстрату реакції і з регуляторним центром ферменту навіть при нефізіологічних концентраціях останнього. Як зазначають вчені [29], асоціація АТФ за таких умов з низькоафінними центрами прискорює не тільки гідролітичний цикл, але й впливає на спорідненість катіон-зв'язувальних центрів ферменту до катіонів які транспортує Na⁺, K⁺-АТФаза.

Значення V_{max} за АТФ дещо відмінні на досліджуваних стадіях розвитку зародків (див. табл. 1), для них також характерна тенденція до зростання. Слід зазначити, що як і у випадку загальної питомої активності АТФази, максимальне значення V_{max} характерно на 8 поділі бластомерів. Отже лише за наявності в середовищі АТФ у концентрації, близькій до цитоплазматичної, максимально активуються центри АТФаз, що у свою чергу, є необхідною умовою для ефективної роботи транспортних систем мембран зародкових клітин.

ВИСНОВКИ

Отже, встановлено, що залежність активності досліджуваної Na⁺, K⁺-АТФази ПМ зародкових клітин в'юна від концентрації нуклеозидтрифосфату (у даному випадку АТФ) є двофазною, практично на усіх досліджуваних стадіях розвитку. Вважаємо, що такий складний характер залежності активності мембранного ферменту зародків від концентрації субстрату реакції, ймовірно, зумовлений появою в їхніх молекулах ділянок із різною спорідненістю до нуклеозидтрифосфату на різних стадіях ембріогенезу. Крім цього встановлено, що максимального значення на восьмій стадії поділу зародків в'юна досягає Na⁺, K⁺-АТФаза [23], як і уабаїнрезистентна базальна Mg²⁺-АТФаза зародків [24]. Такі зміни активності мембранозв'язаних ферментів пов'язані з підвищення інтенсивності експресії молекул цих ферментів упродовж раннього ембріонального розвитку зародків (тобто перших годин розвитку).

Виявлено, що для молекул Na⁺, K⁺-АТФази ПМ зародкових клітин упродовж досліджуваних стадій ембріогенезу характерні більше низькоафінні каталітичні центри, з низькою ($K_m \approx 2,7$ мМ) спорідненістю до АТФ, зв'язування останнього з цими центрами прискорює каталітичний цикл молекул мембранозв'язаного ферменту зародків. Лише на стадії 8 поділу бластомерів K_m є максимальною ($\approx 4,8$ мМ), оскільки власне на цій стадії проходить підготовка до активації усіх енергозалежних процесів, які необхідні для процесів диференціації та нейруляції клітин.

Таким чином, одержані експериментальні дані доцільно застосовувати з метою подальшого з'ясування молекулярних та мембранних механізмів підтримання внутрішньоклітинного іонного гомеостазу зародків упродовж ембріогенезу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лопина О. Д. Взаимодействие каталитической субъединицы Na⁺, K⁺-АТФазы с клеточными белками и другими эндогенными регуляторами // Биохимия. – 2001. – Т. 66, Вып. 10. – С. 1389-1400.
2. Jorgensen P.L., Hakansson K.O., Karlisch S.J. Structure and mechanism of Na,K-ATPase: Functional sites and their interactions // Annu. Rev. Physiol. – 2003. – V. 65. – P. 17-49.
3. Therien A.G., Blostein R. Mechanisms of sodium pump regulation // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2000. – V. 279. – P. 541-566.
4. Woo A. L., James P. F., Lingrel J. B. Sperm motility is dependent on a unique isoform of the Na, K-ATPase // J. Biol. Chem. – 2000. – V. 275, N 27. – P. 20693-20699.

5. Blanco G., Sanchez G., Melton R. J. et al. The $\alpha 4$ isoform of the Na, K-ATPase is expressed in the germ cells of the testes // *J. Histochem Cytochem.* – 2000. – V. 48, N 8. – P. 1023–1032.
6. Boldyrev A. A. Na^+ , K^+ -ATPase: 40 years of investigations // *Membr. Cell. Biol.* – 2000. – V. 13, N 6. – P. 715–719.
7. Akera T., Ng Y. C. Digitalis sensitivity of Na^+ , K^+ -ATPase, myocytes and the heart. // *Life. Sci.* – 1991. – V. 18. – P. 135–142.
8. Greger R. Physiology of renal sodium transport // *Am. J. Med.* – 2000. – V. 319. – P. 51–62.
9. Xie Z., Askari A. Na^+ / K^+ -ATPase as a signal transducer // *Eur. J. Biochem.* – 2002. – V. 269. – P. 2434–2439.
10. Orlov S.N., Pchejetski D., Taurin S., Thorin-Trescases N., Maximov G.V., Pshezhetsky A.V., Rubin A.B., Hamet P. Apoptosis in serum-deprived vascular smooth muscle cells: evidence for cell volume-independent mechanism // *Apoptosis.* – 2004. – V. 9, N 1. – P. 55–66.
11. Ver A., Csernely P., Banyasz T. et al. Alterations in the properties and isoform ratios of brain Na^+ / K^+ -ATPase in streptozotocin diabetic rats // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1995. – V. 1237, N 2. – P. 143–150.
12. Jamme I., Barbey O., Trouvé P., Charlemagne D., Maixent J.M., MacKenzie E.T., Pellerin L., Nouvelot A. Focal cerebral ischaemia induces a decrease in activity and a shift in ouabain affinity of Na^+ , K^+ -ATPase isoforms without modifications in mRNA and protein expression // *Brain Res.* – 1999. – V. 774, N 1–2. – P. 123–130.
13. Данилович Г.В., Костерін С.О. Ідентифікація та характеристика “базальної” Ca^{2+} -незалежної Mg^{2+} -залежної АТФ-гідролазної ферментативної активності у фракції плазматичних мембран гладеньком’язових клітин // *Укр. біохім. журн.* – 2001. – Т. 73, № 6. – С. 30–40.
14. Гойда О.А. Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных. – К.: Наукова думка. – 1993. – 224с.
15. Бериташвили Д.Р., Кутателадзе Т.В., Маршани Д.О., Кафиани К.В. Аденозинтрифосфаты в эмбриональном развитии выюна // *Онтогенез.* – 1974. – Т.5, №4. – С.363–371.
16. Slack C., Warner A.E., Warner R.L. The distribution of sodium and potassium in amphibian embryos during early development // *J. Physiol.* – 1973. – Vol. 232. – P.297–312.
17. Гойда Е.А., Медына И.Р., Санагурский Д.И., Стельмах Н.С. Характеристики электрофизиологических параметров мембран эмбриональных клеток выюна при ингибировании Na^+ , K^+ -АТФ-азы // *Онтогенез.* – 1989. – Т. 20, №2. – С. 164–170.
18. Медына И.Р., Гойда Е.А., Брежестовский П.Д. Механочувствительные калиевые каналы – один из факторов колебаний потенциала покоя в раннем эмбриогенезе выюна // *Биол. мембраны.* – 1988. – Т. 5, № 9. – С. 960–969.
19. Нейфах А. А., Тимофеева М.Я. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития. – М.: Наука. – 1978. – 336 с.
20. Луцик М. Д., Лукьяненко А. В., Кусень С. И. Метод массового механического удаления оболочек из зародышей выюна // *Онтогенез.* – 1983. – Т. 14, №6. – С. 386–388.
21. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Учеб.пособие / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та. – 1982. – 272 с.
22. Деркач М.П., Гумецкий Р.Я., Чабан М.Е. Курс варіаційної статистики. – К.: Вища шк. – 1977. – 208 с.
23. Целевич М.В., Мандзинець С.М., Санагурський Д.І. Na^+ , K^+ -АТФ-азна активність мембран зародків в’юна *Misgurnus fossilis* L. при дії антибіотиків // *Фізіол. журн.* – 2004. – Т. 50, №5. – С. 64–68.
24. Целевич М.В., Фафула Р.В., Галан М.Б., Санагурський Д.І. Ідентифікація Ca^{2+} -активованої, Mg^{2+} -залежної АТФ-гідролазної ферментативної активності мікросомної фракції мембран зародків в’юна (*Misgurnus fossilis* L.) // *Укр. біохім. журн.* – 2007. – Т. 79, №1. – С. 53–57.
25. Leong P.K., Manahan D. Metabolic importance of Na^+ / K^+ -ATPase activity during sea urchin development // *J. Exp. Biol.* – 1997. – V. 200. – P. 2881–2892.
26. Mitsunaga-Nakatsubo K., Fujiwara A., Yasumasu L. Change in the activity of Na^+ , K^+ -ATPase in embryos on the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*, during early development // *Dev. Growth Differ.* – 1992. V. 34. – P. 379–385.
27. Озернюк Н.Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб. – М.: Наука. – 1985. – 175 с.
28. Pavoine C., Lotersztajn S., Mallat A., Pecker F. The high affinity (Ca^{2+} - Mg^{2+})-ATPase in liver plasma membranes is a Ca^{2+} pump. Reconstitution of the purified enzyme into phospholipid vesicles // *J. Biol. Chem.* – 1987. – V. 262. – P. 5113–5117.
29. Nakamura J., Tajima G., Sato C. Na, K-ATPase and related cation pumps / New York Press: The New York Academy of Sciences. 2003. – P. 341–343.