



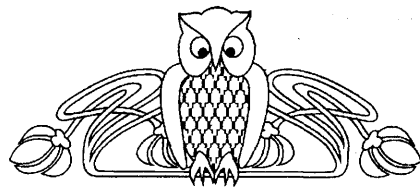
УДК 582.28:57.083

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА АКТИВНОСТЬ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛЕКТИНОВ ГРИБА *LENTINUS EDODES*

О.М. Цивилева, А.Н. Панкратов*, В.Е. Никитина, Н.А. Бычков, Е.А. Лощина

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,
лаборатория микробиологии и микологии
E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

* Саратовский государственный университет,
кафедра аналитической химии и химической экологии
E-mail: PankratovAN@chem.sgu.ru



Показана возможность регулирования лектиновой активности высшего гриба-базидиомицета *Lentinus edodes* с помощью неорганических компонентов жидкой питательной среды. Выяснено, что одним из факторов, влияющих на активность внеклеточных лектинов *L. edodes*, является присутствие в среде культивирования солей металлов в степени окисления +2. Влияние двухзарядных катионов железа, кобальта, никеля на лектиновую активность изменяется симбатно с энергиями (UHF/3-21G(d,p), MP2/3-21G(d,p)/UHF/3-21G(d,p)) реакций хелатообразования гексааква-комплексов металлов с модельным бидентатным лигандом.

Effect of the Selected Inorganic Compounds on the Lectin Activity and Morphogenesis of the Basidiomycete *Lentinus edodes*

О.М. Tsivileva, A.N. Pankratov, V.E. Nikitina,
N.A. Bychkov, E.A. Loshchinina

The possibility of interfering the lectin activity of the higher fungus, basidiomycete *Lentinus edodes* by means of the inorganic components of liquid nutrient medium has been shown. A relationship between the presence of double-charged metal cations in the culture medium and the activity of extracellular lectins of *L. edodes* has been found. The effect of Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} on the lectin activity has been demonstrated to change with a symbate character in respect to the energies of chelating reactions of metals hexaaqua complexes with the model ligand ethylene glycol, computed at the UHF/3-21G(d,p), MP2/3-21G(d,p)/UHF/3-21G(d,p) levels of theory.

Исследование влияния низкомолекулярных соединений на рост и развитие съедобных грибов представляет одну из важных областей биохимии и физиологии высших грибов. В рамках изучения биохимических аспектов развития *Lentinus edodes*, или шиитаке, одним из наименее исследованных классов белков являются лектины, упоминание о которых для этого базидиомицета в литературе ограничивалось работами [1, 2], касающимися выделения лектина из плодового тела. Изучение лектиновой активности *L. edodes* во взаимосвязи с различными физико-химическими факторами, в том числе химическим составом среды культивирования, представляет особый интерес. Настоя-

щая работа посвящена дальнейшему исследованию в этом аспекте внеклеточных лектинов шиитаке, начатому нами ранее [3].

Материалы и методы исследования

В работе использован штамм *L. edodes* F-249 из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета. Культуры грибов поддерживали на сусло-агаре при 4°C. При глубинном культивировании *L. edodes* использовали синтетические среды с источником углерода (концентрация 300 ммоль/л по углероду): *D*-глюкоза, *L*-арабиноза, сахароза; с источниками азота: хлорид аммония или нитрат натрия (соотношение *углерод:азот* в среде составляло от 7.5:1 до 150:1); эссенциальные аминокислоты (20 ммоль/л по азоту). В качестве компонентов-добавок к среде выращивания использовали соли металлов (концентрации 0–10 ммоль/л): $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Синтетическая среда для изучения процессов хелатообразования состояла из глюкозы (50 ммоль/л), аспарагина (10 ммоль/л), включала добавки Fe(II) , Co(II) , Ni(II) (4 ммоль/л) и этиленгликоля (EG) (2 ммоль/л или 4 ммоль/л).

Оптимальная температура роста мицелия для данного вида 26°C [4].

Инокуляцию жидких сред осуществляли стандартными блоками, вырезанными из зоны роста колонии штамма на агаризованном пивном сусле [5], из расчета 3 диска диаметром 5 мм на 50 мл среды.



Гемагглютинирующую активность жидких сред определяли реакцией гемагглютинации с самопроизвольным оседанием эритроцитов, используя 2%-ную суспензию трипсинизированных кроличьих эритроцитов в серии последовательных разведений лектина [6]. Титр гемагглютинации (ТГА) выражали как наибольшее разведение раствора, вызывающее агглютинацию эритроцитов. Удельную активность лектинов выражали как отношение титра гемагглютинации к концентрации белка (мкг/мл) [7–9].

Квантовохимические *ab initio* расчеты осуществляли неограниченным методом Хартри–Фока (UHF) в базисе 3–21G(d,p) (UHF/3-21G(d,p)) [10, 11] с использованием программ из пакета *HyperChem* [HyperChem (TM), Hypercube, Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, Florida 32601, USA]. Полную оптимизацию геометрии проводили посредством алгоритма Полака–Рибера (Polak–Ribiere conjugate gradient algorithm) [12]. Предварительную оптимизацию геометрии осуществляли методом РМЗ [13, 14] с помощью программы из того же пакета. При квантовохимических расчетах задавали условие, чтобы норма градиента не превышала 0.02 ккал/(моль·Å). Корреляционные поправки к хартри-фовским энергиям рассчитывали для оптимизированной геометрии (Single Point) в рамках теории возмущений Меллера–Плессе второго порядка (MP2) [10, 11] в том же базисе (подход MP2/3-21G(d,p)//UHF/3-21G(d,p)).

Результаты

Влияние химического состава синтетической среды выращивания на активность внеклеточных лектинов *L. edodes* подтверждается рядом экспериментов, проведенных нами ранее [3].

Затем были предприняты попытки оптимизировать среду выращивания в отношении лектиновой активности. Для этого определяли в динамике величины ТГА культуральной жидкости при использовании источников азота разной природы. В табл. 1 и 2 приведены соответствующие данные для различных мольных соотношений углерода и неорганического азота в среде культивирования. Из табл. 1, 2 видно, что лектиновая

активность наиболее высока в случае аммонийного азота при соотношении С : N, равном 150 : 1. Данные табл. 3 характеризуют лектиновую активность жидкой культуры при использовании аминокислотного источника азота для различных мольных соотношений углерод : азот в среде культивирования. Как видно из табл. 3, активность внеклеточных лектинов *L. edodes* F-249 высока для сред с органическим азотом (ТГА достигает значения 4096 при соотношении С : N, равном 17 : 1).

Таблица 1

Максимальные значения ТГА
в зависимости от соотношения углерод : азот
в среде культивирования *L. edodes* F-249 с NH_4Cl

С : N				
150 : 1	75 : 1	30 : 1	12.5 : 1	7.5 : 1
1024 (13)	64 (1, 9–27)	64 (1, 13–27)	64 (13–27)	64 (13–27)

Примечание. В скобках указан возраст глубинной культуры, сут.

Таблица 2

Максимальные значения ТГА
в зависимости от соотношения углерод : азот
в среде культивирования *L. edodes* F-249 с NaNO_3

С : N					
150 : 1	75 : 1	30 : 1	15 : 1	10 : 1	7.5 : 1
512 (1–3, 7, 11–14)	512 (7, 11)	128 (1–3, 7–17)	128 (1–3, 7, 11–17)	512 (3)	256 (3)

Примечание. См. табл. 1.

Таблица 3

Максимальные значения ТГА
в зависимости от соотношения углерод : азот
в среде культивирования *L. edodes* F-249 с *L*-аспарагином

С : N					
152 : 1	77 : 1	32 : 1	17 : 1	12 : 1	9.5 : 1
128 (1–9)	1024 (3–7)	1024 (1–7)	4096 (3–7)	1024 (3–7)	1024 (1–7)

Примечание. См. табл. 1.

Оптимизацию состава питательной среды в отношении лектиновой активности продолжали при использовании солей некоторых металлов в степени окисления +2. Определяли лектиновую активность культуральной жидкости *L. edodes* F-249 в динамике, изучая зависимости титра гемагглютинации от продолжительности выращивания. Источником азота служил *L*-аспарагин.



Среды выращивания с кальцием (источник углерода – глюкоза, сахароза, арабиноза) различаются как величинами титров гемагглютинации (максимальные значения составляют 1024 для глюкозы и арабинозы, 256 для сахарозы), так и периодами проявления наибольшей лектиновой активности. Так, титр 1024 наблюдается при содержании Ca^{2+} 1 ммоль/л на 9-е сут и в период 16–28 сут культивирования в случае глюкозы, но только в интервале 21–28 сут в случае арабинозы. Максимальная лектиновая активность (титр 256) на среде с сахарозой наблюдается лишь на 3-и и 5-е сут, причем при той же 1 мМ концентрации Ca^{2+} .

Более высокое содержание магния (2 мМ) способствует проявлению наибольшей для среды с этим катионом активности внеклеточных лектинов *L. edodes* F-249 с титром гемагглютинации культуральной жидкости 1024 в течение самого длительного из вышеупомянутых периода выращивания – 13–28 сут.

В случае марганца, аналогично кальцию, более благоприятна для проявления лектиновой активности 1 мМ концентрация катиона. Возраст культуры 21–28 сут; титр не превышает 512. В единственном случае, на 5-е сутки, эта величина титра соответствует 2 ммоль/л Mn^{2+} .

Интересно, что при использовании в качестве добавки к синтетической среде культивирования *L. edodes* F-249 двухзарядных катионов меди имела место зависимость «лектиновая активность – концентрация катиона», противоположная наблюдаемой для других металлов в настоящей работе. Наибольшая активность внеклеточных лектинов проявлялась на среде с максимальным содержанием меди; титр гемагглютинации 1024 при возрасте культуры 5 и 21–28 суток. И если до 3 суток выращивания оптимальна концентрация 6–8 ммоль/л Cu^{2+} (титр 256 по сравнению с 128 для 10 ммоль/л Cu^{2+}), то в течение всего периода культивирования 5–28 сут титр гемагглютинации жидкой среды наиболее высок при 8–10 мМ Cu^{2+} . Обсуждаемые выше для других металлов концентрации 1 и 2 мМ в случае Cu^{2+} способствуют проявлению максимальной для этих концентраций лектиновой активности с титром 256 и 512 соответственно при возрасте культуры 21–28 суток.

Более подробное исследование в динамике внеклеточной лектиновой активности шиитаке при выращивании на синтетических средах с разными концентрациями Cu^{2+} (в интервале концентраций катиона от $2 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л) проводили, определяя один из важнейших параметров – удельную лектиновую активность, достигаемую в культуральной жидкости при используемых концентрациях компонентов среды. Наилучший результат получался при концентрации ионов меди (II) в синтетической среде культивирования *Lentinus edodes* – 1 мМ, D-глюкозы – 300 мМ по углероду, L-аспарагина – 20 мМ по азоту. При возрасте глубинной культуры 14 сут достигалось более чем 8-кратное увеличение удельной лектиновой активности при указанной концентрации Cu^{2+} по сравнению с более низкими концентрациями меди из приведенного выше интервала значений. Результаты иллюстрирует рис. 1.

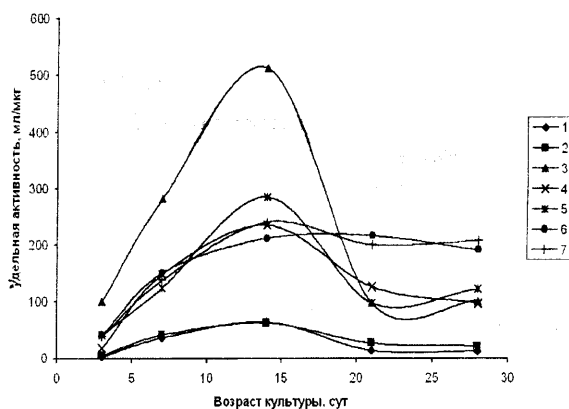


Рис. 1. Зависимость удельной лектиновой активности (ТГА/(белок, мкг/мл)) культуральной жидкости *L. edodes* F-249 с добавкой меди (II) от времени культивирования. Концентрация Cu^{2+} , (моль/л) 10^4 : 1 – 2; 2 – 5; 3 – 10; 4 – 20; 5 – 50; 6 – 100; 7 – 0

Максимальная лектиновая активность в случае и железа, и цинка характеризуется титром 128, за единственным исключением (14-суточная культура, концентрация M^{2+} – 10 мМ). Активность выше с компонентом среды Fe^{2+} по сравнению с Zn^{2+} . Увеличение концентрации катиона от 4 до 10 ммоль/л после 3 сут выращивания не сказывается на величине титра гемагглютинации в случае Zn^{2+} , однако оно приводит к снижению титра в 2 раза при возрасте культуры 14 сут на среде с железом.



При увеличении концентрации катиона металла лектиновая активность снижается. Небольшое возрастание титра (в 2 раза) можно отметить только в случае Sn^{2+} после 10 сут выращивания. С добавками кобальта в степени окисления +2 титр гемагглютинации культуральной жидкости ниже в 4 раза при концентрации Co^{2+} 10 мМ по сравнению с 4 мМ. Наибольший отрицательный эффект добавки в среду культивирования двухзарядных катионов имеет место в случае никеля: лектиновая активность проходит через максимум на 10-е сутки культивирования (титр 32) при 4 мМ Ni^{2+} и не проявляется совсем при 10 мМ.

Принимая во внимание величины титров гемагглютинации и продолжительность периода их существования, на основе полученных данных можно сделать вывод, что активность внеклеточных лектинов *Lentinus edodes* F-249 в зависимости от присутствия в синтетической жидкой среде культивирования двухзарядных катионов металлов изменяется в ряду:

$$\text{Mg} > \text{Ca} > \text{Cu} > \text{Fe} > \text{Mn} > \text{Zn} \approx \text{Sn} > \text{Co} > \text{Ni}.$$

Интерес представляет объяснение влияния катионов металлов на лектиновую активность с позиций квантовой химии. Вероятный механизм положительного влияния катионов металлов на лектиновую активность состоит в том, что они образуют смешаннолигандные комплексы с гидроксильными группами лектинов и гликоконъюгатов, способствуя обратимому связыванию гликоконъюгатов лектинами. Почему же двухзарядные ионы железа, кобальта и никеля, составляющие ряд близких по важнейшим характеристикам катионов металлов со сходной электронной конфигурацией, так сильно различаются по своему влиянию на лектиновую активность? Скорее всего, различия в гораздо большей степени определяются термодинамикой реакций комплексообразования, прочностью связи металл–кислород, чем электростатическими предпосылками комплексообразования M^{2+} с кислородсодержащими лигандами.

Для проверки этого предположения мы провели квантовохимическое *ab initio* исследование термодинамики реакций гексааквакомплексов железа (II), кобальта (II) и нике-

ля (II) с модельной системой – этиленгликолем как типичным хелатообразующим реагентом и простым аналогом углеводов. Трактовка катионов Fe^{2+} , Co^{2+} и Ni^{2+} и комплексов с этиленгликолем как аддуктов, содержащих молекулы воды во внутренней координационной сфере, позволяет достаточно адекватно учесть гидратацию. При расчетах принимали во внимание то, что молекулы воды и органического реагента как лиганды создают достаточно слабое поле [15]. Спиновая мультиплетность смешаннолигандных комплексов – такая же, как у акваионов [16]: 5, 4 и 3 для соединений Fe(II), Co(II) и Ni(II) соответственно. В качестве примеров приведены графические образы молекулы этиленгликоля (рис. 2, а), гексааквакомплекса никеля (II) (рис. 2, б) и смешаннолигандного комплекса никеля (II) с водой и этиленгликолем (рис. 2, в) с геометрией, оптимизированной методом UHF/3-21G(d,p).

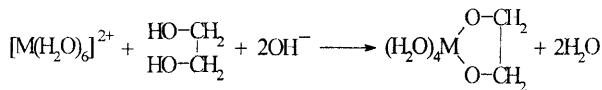
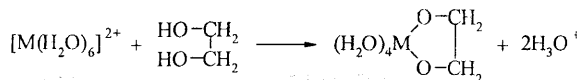
Возможны варианты комплексообразования с участием как ионов гидроксония, так и гидроксид-ионов. Чтобы отразить тенденцию изменения (ΔE) значений полной энергии молекулярных систем в ряду металлов независимо от того, по какому брутто-уравнению протекает реакция, целесообразно представить энергетические эффекты в виде относительных величин (табл. 4). Величина ΔE является аналогом свободной энергии (ΔG) реакции без учета энтропии. Использование величины ΔE или энтальпии реакции ΔH вместо ΔG корректно (см., например, [17–30]). Учет электронной корреляции сглаживает, делает более реалистичными различия в ΔE для разных катионов металлов. Ряд уменьшения склонности катионов к комплексообразованию с этиленгликолем $\text{Fe}^{2+} > \text{Co}^{2+} \gg \text{Ni}^{2+}$, полученный из квантовохимических расчетов, согласуется с рядом уменьшения влияния этих катионов на лектиновую активность: $\text{Fe}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$.

Наряду с описанным выше квантовохимическим *ab initio* исследованием термодинамики реакций гексааквакомплексов Fe(II), Co(II) и Ni(II) с этиленгликолем мы провели экспериментальное исследование поведения моделируемой системы. Для этого определяли в динамике лектиновую активность культуральной жидкости *L. edodes* в разных вари-



Таблица 4

Значения ΔE реакции по отношению к $M = Fe$

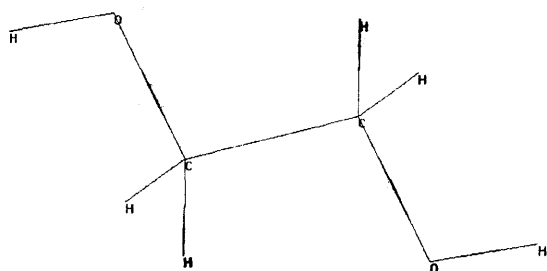


M	ΔE , ккал/моль	
	UHF/3-21G(d,p)	MP2/3-21G(d,p)/UHF/3-21G(d,p)
Fe	0	0
Co	6	33
Ni	261	185

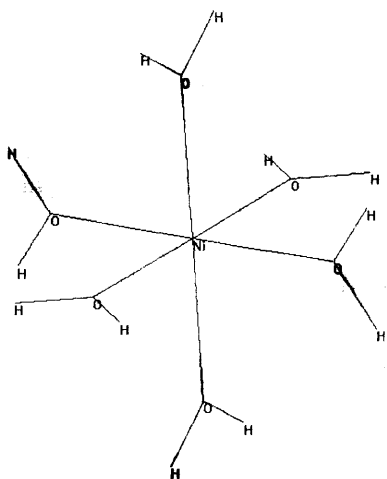
антах опыта. Во-первых, соли перечисленных металлов и этиленгликоль вводили в состав стерильных питательных сред перед их засевом мицелием. Во-вторых, изучаемые химические добавки, стерилизованные в тонком слое, вводили в состав бесклеточной культуральной жидкости, асептически отобранной из среды выращивания *L. edodes* при возрасте культуры, характеризующемся высоким титром гемагглютинации. По-нашему мнению, активность внеклеточных лектинов шиитаке в описанных экспериментальных условиях позволила бы судить о степени участия катионов железа, кобальта, никеля в процессах биосинтеза лектинов, предположительно опосредованных хелатообразованием с соединениями – носителями гидроксильных групп.

Удобно представить полученные данные в виде отношения TGA_{add}/TGA , где TGA_{add} – титр гемагглютинации в присутствии Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} или этиленгликоля как компонентов питательной среды, TGA – титр гемагглютинации в отсутствие этих добавок. Результаты показаны в табл. 5. Прежде всего отметим, что величины TGA_{add}/TGA равны единице для всех возрастов культуры и вариантов опыта, когда к среде добавлен только этиленгликоль, что говорит об отсутствии заметного влияния последнего на лектиновую активность и правомерности использования этого соединения в качестве модельного хелатообразующего реагента для целей настоящей работы.

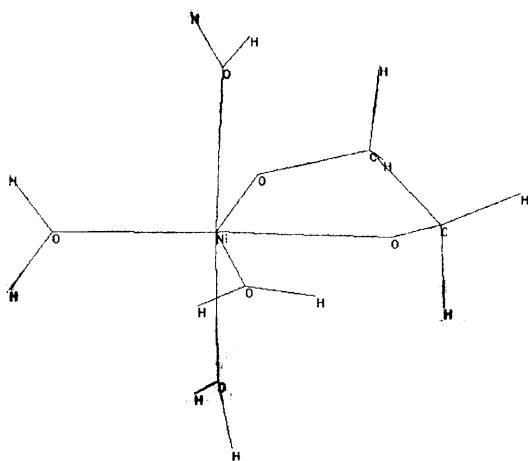
Данные, представленные в табл. 5 для разной продолжительности инкубирования бесклеточной жидкости с добавками M^{2+} , по-



a



б



в

Рис.2. Графический образ: а – молекулы этиленгликоля, б – молекулы и акваиона $[Ni(H_2O)_6]^{2+}$, в – молекулы смешаннолигандного комплекса никеля (II) с водой и этиленгликолем $[Ni(H_2O)_4(OCH_2CH_2O)]$ с геометрией, оптимизированной методом UHF/3-21G(d,p)



Таблица 5

Влияние добавок к среде культивирования
на лектиновую активность культуральной жидкости
L. edodes F-249 (TGA_{add}/TGA)

Добавка к среде ^b	Продолжительность инкубирования с добавкой ^a , сут						
	3	7	10	14	17	21	25
Fe(II)	1 [1]	1 [1]	1 [1]	1 [1]	1/2	1/4	1/4
Fe(II)+EG ^c	1 [1]	2 [1]	1 [1]	1 [1]	1/2	1/4	1/4
Fe(II)+2EG ^d	2 [1]	4 [1]	1 [1]	1 [1]	1	1/2	1/2
Co(II)	1/8 [1]	1/8 [1/8]	1/16 [1/2]	1/16 [1]	1/16	1/32	1/32
Co(II)+EG	1/2 [1]	1/4 [1]	1/16 [1]	1/16 [1]	1/16	1/32	1/32
Co(II)+2EG	1 [1]	1 [1]	1/4 [1]	1/16 [1]	1/16	1/16	1/16
Ni(II)	1/32 [1]	1/64 [1/64]	1/128 [1/16]	1/128 [1/8]	0	0	0
Ni(II)+EG	1/32 [1]	1/64 [1/32]	1/128 [1/8]	1/128 [1/4]	0	0	0
Ni(II)+2EG	1/8 [1]	1/64 [1/32]	1/128 [1/8]	1/128 [1/2]	0	0	0
EG	1 [1]	1 [1]	1 [1]	1 [1]	1	1	1
2EG	1 [1]	1 [1]	1 [1]	1 [1]	1	1	1

Примечания. ^a В квадратных скобках приведены данные для бесклеточной культуральной жидкости (см. пояснения в тексте). ^b Состав сред более подробно указан в тексте. ^c Среда с этиленгликолем (2 ммоль/л). ^d Среда с этиленгликолем (4 ммоль/л).

казывают, что предполагаемое нами взаимодействие катионов металлов с лектинами, присутствующими в среде, само по себе оказывает достаточно малое влияние на активность этих белков. Отношение TGA_{add}/TGA бесклеточной жидкости равно единице во всех случаях до 3-х сут инкубации. Однако к 7-м сут эта величина для Co(II) и Ni(II) значительно снижается (до 1/8 и 1/64 TGA соответственно) и становится одинаковой в случаях растущей культуры и бесклеточной культуральной жидкости. Несколько «исправляет» ситуацию присутствие этиленгликоля, повышающее TGA_{add}/TGA в 8 раз для Co(II) и в 2 раза для Ni(II), по-видимому, благодаря обратимому, протекающему в различной степени (см. выше теоретическое рассмотрение) комплексообразованию M^{2+} . Интересно, что для большинства добавок на

14-е сут величина TGA_{add}/TGA возвращается к единице (далее наблюдения не проводились, так как имело место уменьшение величины TGA из-за естественного снижения активности лектинов во времени). То есть при длительном инкубировании M^{2+} с лектинами даже Ni^{2+} не оказывает такого резко отрицательного влияния на TGA_{add} , как при добавлении его перед инокуляцией питательной среды мицелием. По-видимому, катионы металлов участвуют в процессах биосинтеза лектинов на их начальных этапах, что вполне подтверждается данными табл.5. Наиболее благоприятны добавки Fe^{2+} : при одновременном присутствии с этими катионами этиленгликоль оказал значительное положительное влияние на лектиновую активность культуры (отношение TGA_{add}/TGA составило 4 на 7-е сут культивирования). Наибольшая склонность к комплексообразованию соединений, содержащих гидроксогруппы именно для этого M^{2+} , показана выше квантовохимическими расчетами.

Таким образом, в настоящей работе установлено, что одним из факторов, влияющих на лектиновую активность глубинной культуры *L. edodes*, является присутствие в среде культивирования солей металлов в степени окисления +2. Обнаружено, что в отношении величин титров гемагглютинации и периодов проявления наибольшей лектиновой активности имеет значение не только концентрация катиона M^{2+} , но и источник углеродного питания грибной культуры. Оказалось, что лишь в случае меди имеет место зависимость *лектиновая активность – концентрация катиона*, противоположная наблюдаемой для других металлов в настоящей работе. Полученные данные позволяют составить последовательность в порядке уменьшения положительного эффекта M^{2+} на активность внеклеточных лектинов шиитаке.

Высказана гипотеза об обратимом связывании катионов металлов в непрочные смешаннолигандные комплексы с лектинами и гликоконъюгатами, способная разумно объяснить различное влияние катионов металлов на лектиновую активность. Проведено квантовохимическое *ab initio* исследование термодинамики реакций аквакомплексов металлов (II) с модельной системой – эти-



ленгликолем. Оказалось, что влияние двухзарядных катионов железа, кобальта, никеля на лектиновую активность изменяется симбатно с энергиями (UHF/3-21G(d,p), MP2/3-21G(d,p)/UHF/3-21G(d,p)) реакций хелатообразования гексааквакомплексов металлов с модельным бидентатным лигандом.

Библиографический список

1. Jeune K.H., Moon I.J., Kim M.K., Chung S.R. Studies on Lectins from Korean Higher Fungi; IV. A Mitogenic Lectin from the Mushroom *Lentinus edodes* // *Planta Med.* 1990. V.56. P.592.
2. Wang H.X., Ng T.B., Ooi V.E.C. Studies on Purification of a Lectin from Fruiting Bodies of the Edible Shiitake Mushroom *Lentinus edodes* // *Intern. J. Biochem. Cell Biol.* 1999. V.31, №5. P.595–599.
3. Цивилева О.М., Никитина В.Е., Гарибова Л.В. и др. Гемагглютинирующая активность *Lentinus edodes* (Berk.) Sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] // *Микробиология.* 2000. Т.69, №1. С.38–44.
4. Przybylowicz P., Donoghue J. Shiitake Growers Handbook: The Art and Science of Mushroom Cultivation. Dubuque: Kendall/Hunt Publ. Co., 1991. 217 p.
5. Leatham G.F., Stahmann M.A. Studies on the Laccase of *Lentinus edodes*: Specificity, Localization and Association with the Development of Fruiting Bodies // *J. Gen. Microbiol.* 1981. V.125. P.147–157.
6. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н., Луцик А.Д. Лектины. Львов: Вища школа. Изд-во при Львовск. ун-те, 1981. 156 с.
7. Kawagishi H., Nomura A., Mizuno T. et al. Isolation and Characterization of a Lectin from *Grifola frondosa* Fruiting Bodies // *Biochim. Biophys. Acta.* 1990. V.1034. P.247–252.
8. Kaneko T., Oguri S., Kato S., Nagata Y. Developmental Appearance of Lectin During Fruit Body Formation in *Pleurotus cornucopiae* // *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1993. V.39. P.83–90.
9. Yoshida M., Kato S., Oguri S., Nagata Y. Purification and Properties of Lectins from a Mushroom *Pleurotus cornucopiae* // *Biosci. Biotech. Biochem.* 1994. V.58, №3. P.498–501.
10. Hehre W.J., Radom L., Schleyer P.v.R., Pople J.A. *Ab Initio* Molecular Orbital Theory. N.Y.: Wiley, 1986. 548 p.
11. Кларк Т. Компьютерная химия: Практ. руководство по расчетам структуры и энергии молекулы / Пер. с англ. А.А. Коркина; Под ред. В.С. Мастрюкова, Ю.Н. Панченко. М.: Мир, 1990. 383 с.
12. Дэннис Дж., Шнабель Р. Численные методы безусловной оптимизации и решения нелинейных уравнений / Пер. с англ. О.П. Бурдакова; Под ред. Ю.Г. Евтушенко. М.: Мир, 1988. 440 с.
13. Stewart J.J.P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. I. Method // *J. Comput. Chem.* 1989. V.10, №2. P.209–220.
14. Stewart J.J.P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. II. Applications // *J. Comput. Chem.* 1989. V.10, №2. P.221–264.
15. Хьюи Дж. Неорганическая химия. Строение вещества и реакционная способность / Пер. с англ. Л.Ю. Аликберовой, Н.И. Козловой, Н.С. Рукк, Е.В. Савинкиной, А.А. Цветкова; Под общ. ред. Б.Д. Степина, Р.А. Лидина. М.: Химия, 1987. 696 с.
16. Лидин Р.А., Андреева Л.Л., Молочко В.А. Справочник по неорганической химии. Константы неорганических веществ. М.: Химия, 1987. 320 с.
17. Днепровский А.С., Темникова Т.И. Теоретические основы органической химии. Строение, реакционная способность и механизмы реакций органических соединений. Л.: Химия, 1991. 560 с.
18. Дьюар М. Теория молекулярных орбиталей в органической химии / Пер. с англ. А.А. Дяткиной; Под ред. М.Е. Дяткиной. М.: Мир, 1972. 592 с.
19. Pankratov A.N., Shchavlev A.E. Semiempirical Quantum Chemical PM3 Computations and Evaluations of Redox Potentials, Basicities and Dipole Moments of the Diphenylamine Series As Analytical Reagents // *Canad. J. Chem.* 1999. V.77, №12. P.2053–2058.
20. Pankratov A.N., Tsivileva O.M., Nikitina V.E. Laccase of *Lentinus edodes* Catalyzed Oxidation of Amines and Phenolic Compounds: A Semiempirical Quantum Chemical Consideration // *J. Biochem. and Mol. Biol.* 2000. V.33, №1. P.37–42.
21. Pankratov A.N., Uchaeva I.M. A Semiempirical Quantum Chemical Testing of Thermodynamic and Molecular Properties of Arsenic Compounds // *J. Mol. Struct. Theochem.* 2000. V.498, №1–3. P.247–254.
22. Pankratov A.N. Electrophilic Aromatic Substitution Regioselectivity for Benzene Derivatives in Terms of Cationic Localization Energies from Semiempirical Quantum Chemical Computations // *J. Mol. Struct. Theochem.* 2000. V.507, №1–3. P.239–244.
23. Pankratov A.N. Azo-Coupling Reactions Used in Analytical Chemistry: The Role of Reactants, Intermediates, and Aqueous Medium // *Helvetica Chim. Acta.* 2004. V.87, №6. P.1561–1573.
24. Панкратов А.Н. Количественные соотношения структура – свойство в ряду катионов диазония – полупродуктов синтеза аналитических форм и красителей // *Журн. аналит. химии.* 2005. Т.60, №2. С.149–156.
25. Панкратов А.Н., Древо Б.И. Квантово-химическое изучение «гидридной» подвижности в молекулах халькогенопиранов // *Химия гетероцикл. соед.* 2005. №9. С.1305–1311.
26. Панкратов А.Н. Аналитические реакции азосочетания: взгляд с точки зрения квантовой химии // *Журн. аналит. химии.* 2005. Т.60, №10. С.1036–1046.
27. Shchavlev A.E., Pankratov A.N., Shalabay A.V. Theoretical Studies on the Intramolecular Hydrogen Bond and Tautomerism of 8-Mercaptoquinoline in the Gaseous Phase and in Solution Using Modern DFT Methods // *J. Phys. Chem. A.* 2005. V.109, №18. P.4137–4148.
28. Shchavlev A.E., Pankratov A.N., Borodulin V.B., Chaplygina O.A. DFT Study of the Monomers and Dimers of 2-Pyrrolidone: Equilibrium Structures, Vibrational, Orbital, Topological, and NBO Analysis of Hydrogen-Bonded Interactions // *J. Phys. Chem. A.* 2005. V.109, №48. P.10982–10996.
29. Shchavlev A.E., Pankratov A.N., Shalabay A.V. DFT Computational Studies on Rotation Barriers, Tautomerism, Intramolecular Hydrogen Bond, and Solvent Effects in 8-Hydroxyquinoline // *Intern. J. Quantum Chem.* 2006. V.106, №4. P.876–886.
30. Сурова Т.В., Еняшин А.Н. Таутомерия и кислотные свойства N-незамещенных бензогидроксамовых кислот: полумпирическая квантовохимическая оценка // *Журн. структурн. химии.* 2003. Т.44, №2. С.334–337.