

УДК 577.1/3

С.В. Горобець, О.Ю. Горобець, Д.В. Сівенок, Ю.М. Чиж

## ГЕНЕТИЧНА РЕГУЛЯЦІЯ ТА ФЕНОТИПОВИЙ ПРОЯВ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІОГЕННИХ МАГНІТНИХ НАНОЧАСТИНОК У МАГНІТОТАКСИСНИХ БАКТЕРІЙ І ЛЮДИНИ

By employing the bioinformatics methods, we consider the similarity between the genes of magnetosome island of magnetotactic bacteria and human genes for establishing the degree of homology and determination of functional class of proteins. We analyze the most meaningful coincidences between the genes of magnetosome island of bacteria of *Magnetospirillum gryphiswaldense* and human genes. We uncover the essential smoothing mainly among proteins of functional class. The process of biomineralization of magnetite in MTB, namely MamB, MamE, MamA, MamN, MamO, MamM can't be conducted without these proteins. They have the well known common functions or belong to the same family. The analysis of homologues of regulator proteins (what regulate a form, size and amount of parts of  $Fe_3O_4$ , and also regulate formation of chain and magnetosome vesicule) show that only one protein of MamK can be a hypothetical homologues with the human proteins. The research results demonstrate there is no class of regulatory proteins in humans. There is strict control on the size of genetic and structural characteristics of biogenic magnetite.

### Вступ

Вивчення біогенного магнетиту почалося ще з 1975 р., коли його було знайдено спочатку в прокариотах, а потім в еукаріотах [1]. Біогенний магнетит являє собою нанокристали, які володіють магнітними властивостями [2]. Виявилось, що більшість організмів здатні накопичувати магнетит, який слугує не тільки для навігації в магнітному полі Землі, а й для акумуляції парамагнітних компонентів клітини, таких як іони заліза, кисню та білки, для регуляції транспортних процесів у клітині шляхом зміни градієнтів концентрації різних компонентів залежно від їх магнітної сприйнятливості [3]. У людини магнетит було знайдено в таких органах, як серце, печінка, селезінка [4], магнітні наночастинки також є складовою частиною численних тканин мозку людини (кори головного мозку, мозочка, мозкових оболонок) [5]. Підвищений рівень заліза супроводжує неврологічні та нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Альцгеймера, Паркінсона, Хантінгтона [6], епілепсія та нейроферінопатія [7]. Крім того, підвищений рівень заліза спостерігається при канцерогенезі – молочна залоза, яєчники, яєчка, меланома, менінгіома, гліобластома, астроцитоза, гліома [8], карцинома Ерліха [9, 10] і при метастазуванні пухлин [8].

На сьогодні формування магнітосом у магнітотаксисних бактерій (МТБ) є предметом інтенсивних досліджень в областях мікробної цитології, біотехнології та нанотехнології. МТБ, зокрема *Magnetospirillum gryphiswaldense*, синтезують магнітосомы, що містять кристали магнетиту ( $Fe_3O_4$ ), у внутрішньому просторі магнітосомної мембрани (ММ) везикули. ММ – уні-

кальний пул, що забезпечує просторовий та фізико-хімічний контроль над біомінералізацією магнетиту та має відмінний від цитоплазматичної мембрани мікробної клітини біохімічний склад [11]. Окрім фосфоліпідів, ММ містить певну кількість магнітосом-асоційованих білків (МАБ). Більшість МАБ закодовано в рамках *mamGFDC*, *mms* і *mamAB* оперонів [11].

### Постановка задачі

Мета роботи – здійснити порівняльний аналіз амінокислотних послідовностей білків магнітосомного острівця (МО) МТБ з білками людини, враховуючи їх функціональну класифікацію: білки, без яких неможливий процес біомінералізації магнетиту та регуляторні білки, що контролюють форму, розмір і розташування нанокристалів магнетиту. Паралельно з порівнянням генетичної інформації будуть порівнюватися наявні розмірні та структурні характеристики біогенного магнетиту МТБ і людини з метою виявлення взаємозв'язку між приналежністю знайдених статистично значущих збігів білкових послідовностей МТБ та людини до конкретного функціонального класу і їх фенотипових проявів.

### Білки магнітосомного острівця та їх функціональна класифікація

З огляду на поставлену задачу можна виокремити два вказані вище функціональні класи білків МО.

До першого класу білків, без яких неможливий процес біомінералізації магнетиту, на-

лежать білки MamB, MamE, MamA, MamO, MamM, MamN.

MamB – функціональний білок, який бере участь у біомінералізації та допомагає клітинам формувати кристали [12].

MamE кодує серинові протеази, які потенційно залучені в Fe<sup>2+</sup>-залежне окислення.

MamA є одним з найбільш вивчених і консервативних МАБ. Він також відомий як Mms24 та Mam22. MamA важливий для магнітосомної активації, а отже, для всього процесу біомінералізації. Властивості білка MamA передбачають, що функціональність індивідуальних магнітосомних везикул може бути відрегульована. Так, при видаленні білка MamA проникнення везикул не змінюється, але процес біомінералізації окису заліза не відбувається [13]. Мутація MamA призводить до зміни клітинної локалізації білка під час фази росту [13]. Інша гіпотеза полягає в тому, що MamA може використовуватись МТБ для регулювання довжини магнітосомних ланцюгів у відповідь на присутність заліза або інших умов навколишнього середовища [14].

Відомо, що мутанти з відсутніми MamO, MamM чи MamN білками в змозі формувати лише порожні ланцюги везикул і не можуть синтезувати магнетит у межах ММ. Тобто це означає, що MamO, MamM та MamN потенційно важливі для біомінералізації та залучені до формування ядра магнетиту чи у формуванні середовища, сприятливого хімічного оточення для синтезу магнетиту в магнітосомах.

До регуляторного класу білків магнітосомного острівця можна віднести такі білки: MamQ, MamL, MamI, MamK, MamJ, MamD, MamF, MamC, MamG, MamY, MamX, MamZ, MamP, MamT, MamR та MamS.

Формування обмеженої мембраною структури відбувається при участі МАБ MamQ та MamL. Локалізація MamI передбачає, що цей білок зв'язується з магнітосомами та може бути використаний як маркер присутності та розташування магнітосомних везикул.

MamK і MamJ залучені до формування лінійних ланцюгів магнітосом.

Гідрофобні MamD і MamF знайдені виключно в ММ, вони залучені в регулювання розміру кристала магнетиту [11].

Дослідження показали, що ні MamC, ні MamG, які разом становлять приблизно 15 % усіх МАБ, не є істотними для біомінералізації магнетиту. З'ясувалось, що втрата найголовнішого серед них – MamC, мала незначний

вплив на розміри зрілих кристалів. Навіть відсутність усіх чотирьох білків повністю не відміняло формування магнітосом [15].

MamY був нещодавно включений у біогенетику МТБ, MamX подібний до серинової протеази MamE, а MamZ – до суперроддини пермеаз [16].

Видалення MamP, MamT, MamR та MamS по-різному впливає на процес біомінералізації в цілому. Так, при відсутності MamP мутант синтезує менше включень магнетиту (до чотирьох на одну клітину, тоді як у дикому типі – 15–25 кристалів), але які нагадують кристали дикого типу по формі. Крім того, як показано у праці [12], MamP може відігравати роль в управлінні розмірами кристалів. За експериментальними даними цієї ж праці, фенотип MamT відповідає за формування кристалів магнетиту.

За відсутності MamR ніякого очевидного дефекту в магнітосомному ланцюгу не відбувається, клітини зберігають здатність формувати магнітосоми. Крім того, MamR відіграє роль в управлінні кількістю та розміром частинок, і не бере участі в контролі кристалічної морфології.

MamS бере участь в управлінні морфологією та розміром кристалів магнетиту. Однак припускається, що MamS та MamT беруть участь на різних етапах синтезу кристалів магнетиту.

Отже, всі проведені спостереження та дослідження в області біомінералізації демонструють, що весь процес, починаючи від формування везикули до утворення магнітосомних ланцюгів, перебуває під суворим генетичним контролем у МТБ. При цьому кожен білок МО має чітко визначені функції. Тому з огляду на функціональне призначення білки МО можна розділити на два класи: 1) без яких не відбувається процес біомінералізації магнетиту та 2) які задіяні в контролі форми, розмірів і структурної організації біогенного магнетиту в МТБ.

#### **Аналіз фенотипового прояву регуляції синтезу біогенного магнетиту в МТБ та людини**

Фенотиповий прояв генетичної регуляції синтезу біогенних наночастинок магнетиту в МТБ має всі ознаки суворого генетичного контролю їх властивостей та структурної організації. Так, магнітосоми в бактеріях являють собою десятки окремих наночастинок магнетиту в складі ланцюжків [1, 17]. Також відомо, що ланцюжки магнітних наночастинок розташовані

ні вздовж довгої осі бактерії. Кожна магнітна наночастинка покрита мембраною (так званою магнітосомною везикулою). Спостерігається чітко визначена форма та розміри зрілих наночастинок магнетиту для кожного штаму МТБ, що є проявом експресії регуляторних генів МО [18, 19]. Кількість біогенних магнетитових наночастинок також є чітко визначеною за нормальних (мікроаеробних) умов культивування МТБ і її зміна під впливом зовнішніх факторів (зовнішнє магнітне поле, зміна концентрації кисню або заліза) корелює з відповідною зміною експресії генів МО [20].

Крім МТБ, біомінералізація магнетиту була виявлена в багатьох організмів, зокрема, у молюсків, членистоногих, риб, тварин, в мозку й інших органах людини. У тканинах людини наночастинки магнетиту організовані в лінійні, пов'язані з мембраною ланцюжки, кілька мікрометрів у довжину (до 80 кристалів у ланцюжку) [5]. Проте, незважаючи на інтенсивні дослідження властивостей біогенних магнітних наночастинок, питання про їх походження і фізіологічні функції у людини на сьогодні залишається відкритим. При цьому фенотиповий прояв біогенного магнетиту в людини відрізняється за низкою ознак від МТБ. Тобто, на відміну від МТБ, у людини спостерігається широкий діапазон розмірів і, відповідно, всі фази росту біогенних наночастинок магнетиту, внаслідок цього в тканинах людини присутня як суперпарамагнітна, так і однодоменна фази [21]. Наночастинки біогенного магнетиту у людини з'єднані в кластери доволі неправильної форми, які розташовані у вигляді довгих ланцюжків [21]. Відповідно до зазначеного вище у фенотиповому прояві біомінералізованого магнетиту в людини не спостерігається регуляції його форми, розмірів та інших властивостей. Кількість біогенного магнетиту також варію-

ється в широкому діапазоні в нормальних тканинах людини, наприклад, від 5 до 100 млн нанорозмірних кристалів на грам тканин м'якої і твердої мозкової оболонки [21].

Тому навіть якщо існує генетична регуляція біомінералізації магнетиту в людини, то найімовірніше клас регуляторних білків відсутній і немає суворого генетичного контролю щодо розмірних та структурних характеристик біогенного магнетиту.

#### Аналіз функціональної класифікації статистично значущих вирівнювань білків МО і людини

Щоб перевірити цю гіпотезу було здійснено порівняльний аналіз амінокислотних послідовностей білків МО МТБ і людини з точки зору зазначеної вище функціональної класифікації знайдених гомологів. Для цього використовували програму "BLAST on-line" ресурсу Національного центру біотехнологічної інформації (National Center for Biotechnology Information). Були встановлені стандартні параметри BLAST для виявлення гомологів та стандартні для цієї програми методи оцінки статистичної значущості вирівнювань білкових послідовностей.

У табл. 1 проаналізовано значущі вирівнювання між білками МО бактерії *M. Gryphiswaldense* і людини. З неї видно, що такі вирівнювання знайдено в основному серед білків першого функціонального класу, без яких процес біомінералізації магнетиту в МТБ неможливий.

За результатами табл. 1 можна зробити висновок, що всі білки генів МО, без яких неможлива біомінералізація  $Fe_3O_4$ , а саме MamB, MamE, MamA, MamN, MamO, MamM, мають високий ступінь гомології з білками людини,

**Таблиця 1.** Порівняльна таблиця статистично значущих вирівнювань генів МО МТБ і генів людини із застосуванням стандартних параметрів BLAST (довгі збіги)

Назва білка МО МТБ	MamB	MamE	MamA	MamN	MamO	MamM	MamK
Назва білка-гомолога людини	ZnT-9 ZnT10	HtrA1 HtrA2 HtrA3 HtrA4	PEX5-білки	Пермеаза P	HtrA1 HtrA2	ZnT-9 ZnT-4	MreB
<i>E</i> -число вирівнювання	$2 \cdot 10^{-18}$	$4 \cdot 10^{-30}$	$1 \cdot 10^{-09}$	$6 \cdot 10^{-20}$	$3 \cdot 10^{-10}$	$1 \cdot 10^{-09}$	$1 \cdot 10^{-07}$
Ідентичні амінокислотні залишки у вирівнюванні, %	24	42	26	33	26	24	21

Примітка. В обведеної жирними лініями рамці наведено білки МО МТБ, без яких не відбувається біомінералізація магнетиту, та їх гіпотетичні гомологи в людини.

**Таблиця 2.** Порівняння відомих функцій білків MO MamB, MamE, MamA, MamN, MamO, MamM та вирівняних із ними білків людини

Назва та функції білка MO МТБ	Назва та функції гомологічного білка людини
MamB – транспортер катіонів Co, Zn, Cd	ZnT-9, ZnT-10 – транспортери катіонів Zn. Зміни в цих білках у мозкових областях пов'язані з хворобою Альцгеймера, порушення гомеостазу цинку відіграє роль у патогенезі цієї хвороби [23, 24]
MamE – серинова протеаза. PDZ домен трип-синоподібної серинової протеази залучений до відгуку на тепловий шок, функції шаперонів, апоптозу, може бути відповідальним за впізнання субстрату і/або зв'язування	HtrA – серинові протеази, залучені до важливих фізіологічних процесів, включаючи регулювання мітохондріального гомеостазу, апоптозу та передачу клітинних сигналів, залучені до розвитку патологічних процесів, таких як рак, нейродегенеративні хвороби, хвороби Альцгеймера [25, 26]
MamA містить домен TPR, який є консенсусною послідовністю, знайденою у широкому різноманітті організмів, включаючи бактерії, ціанобактерії, дріжджі, гриби. TPR домен залучений у багатьох функціях, включаючи білок-білкові взаємодії, функції шаперонів, клітинний цикл, транскрипцію, транспорт білків	Pex5 – пероксисома – розповсюджений, оточений мембраною органіод клітини з великим різноманіттям метаболічних функцій: руйнування токсичних сполук, побудова мієлінової оболонки нервових волокон тощо. Ферменти органели використовують молекулярний кисень для відщеплення атомів водню від неорганічних субстратів з утворенням перекису. Pex5 містить домен TPR
MamN – пермеаза P. Точна функція білка P невідома, припускають, що він необхідний для регулювання рН разом із АТФ-керованим протонним насосом	Пермеаза P людини. Мутація у меланосомному P гені відповідальна за класичний фенотип альбінізму типу 2 (OCA2). Хоча точна функція білка P невідома, припускають, що він необхідний для регулювання рН разом з АТФ-керованим протонним насосом
MamO – серинова протеаза	HtrA 2 – серинова протеаза
MamM – транспортер катіонів Co, Zn, Cd	ZnT-4, ZnT-9 – транспортери катіонів Zn [23, 24]

що характеризується спільним фолдингом за значенням *E*-числа відповідних вирівнювань [22]. Проте згідно зі значенням відсотка ідентичних амінокислотних залишків для білків MamB та MamM можливе лише припущення гомології існування подібних функцій для відповідних білків людини, адже відсоток ідентичності цих білків з білками людини потрапляє в так звану “сумнівну зону” [22].

Аналіз гомологів регуляторних білків (які регулюють форму, розмір і кількість часток Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, а також утворення ланцюга та магнітосомних везикул) виявив, що із 17 регуляторних білків MO (таких як MamQ, MamI, MamL, MamJ, MamK, MamF, MamD, MamT, MamP, MamR та MamS) лише один білок MamK може бути гіпотетичним гомологом з білками людини.

Для підтвердження чи спростування гомології білків MamB, MamE, MamA, MamN, MamO, MamM з відповідними білками людини здійснено порівняння відомих функцій білків MO та вирівняних з ними білків людини, яке описане в табл. 2. Для такого порівняння використовувалась інформація про білки MO МТБ та людини, яка міститься в базі даних NCBI.

Аналіз відомих функцій гомологів білків магнітосомного острівця MamB, MamE, MamA, MamN, MamO та MamM у людини показав, що гомологи білків MamB, MamE, MamN та MamM у людини мають спільні функції з відповідними білками MO, а функції білків людини, які є гомологами білків MamA та MamO, мають дещо інші функції порівняно з функціями білків MO, хоча гомологи MamO у людини належать до того ж самого сімейства білків (сімейство HtrA), що й білок MamO МТБ. Аналіз функцій гомологів MamB та MamN у людини додатково підтверджують гіпотезу про гомологію.

Усі інші білки MO з точки зору статистичної оцінки значущості вирівнювань не мають гомології з білками людини.

## Висновки

Методами біоінформатики виявлено можливі гомологи в людини для всіх білків MO МТБ MamB, MamE, MamA, MamN, MamO та MamM, без яких не може відбуватися синтез біогенного магнетиту. Гіпотезу про можливу

гомологію підтверджено на основі оцінки статистичної значущості відповідних вирівнювань за діапазоном значень  $E$ -числа та відсотка ідентичних амінокислотних залишків. Додаткове обґрунтування гіпотези про гомологію полягає у тому, що білки MamB, MamE, MamA, MamN, MamO, MamM мають спільні відомі функції або належать до одного й того ж самого сімейства білків, що і вирівняні з ними білки людини.

Однак білки MO МТБ, які регулюють властивості біогенного магнетиту, але без яких в принципі може відбуватися його біомінералізація, не мають гомологів з білками людини з точки зору оцінки статистичної значущості відповідних вирівнювань. Винятком у цьому функціональному класі є білок MamK, для якого знайдено гіпотетичного гомолога в людини.

Знайдені під час цього дослідження гомологи білків MO МТБ MamB, MamE, MamA, MamN, MamO та MamM гіпотетично є білками, які беруть участь або впливають на біомінералізацію ендogenous магнітопорядкованих наночастинок в організмі людини.

При порівнянні коротких, майже точних, збігів білків MO, без яких неможлива біомінералізація магнетиту, для різних штамів МТБ виявилось, що статистична оцінка гомології перебуває у тому ж діапазоні значень, що і для зазначених вище вирівнювань з білками людини. Це підтверджує можливість збереження функції біомінералізації магнетиту для гомологів цих білків у людини.

Відсутність гомологів регуляторних білків MO МТБ у людини корелює з експериментальними даними різних досліджень [5, 8]: про відсутність монорозмірності, контрольованої форми та строго визначеної кількості магнітних наночастинок, а також везикул навколо кожної частинки магнетиту в клітинах організму людини.

Подальші дослідження білків, що відповідають за синтез і регуляцію біогенних магнітних часток МТБ, дадуть можливість передбачити функції цих білків у людини: накопичення парамагнітних компонентів, регулювання транспортних процесів в клітині, регуляція оксидного стресу.

1. R.B. Frankel, R.P. Blakemore, R.S. Wolfe, "Magnetite in freshwater magnetotactic bacteria", *Science*, vol. 203, pp. 1355–1356, 1979.
2. Дудченко Н.А. Свойства биогенных магнитных минералов // Минералог. перспективы: Матер. Междунар. семинара, Сыктывкар, Республика Коми, 17–20 мая 2011 г. – Россия, 2011. – С. 45–47.
3. Горобец С.В., Горобец О.Ю. Свойства и функции биогенных магнитных наночастиц в организме человека // Наноструктурное материаловед. – 2011. – № 3. – С. 110–121.
4. P.P. Grassi-Schultheiss, F. Heller and J. Dobson, "Analysis of magnetic material in the human heart, spleen and liver", *BioMetals*, vol. 10, pp. 351–355, 1997.
5. J.L. Kirschvink, A. Kobayashi-Kirschvink, B.J. Woodford, "Magnetite biomineralization in the human brain", *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, vol. 89, pp. 7683–7687, 1992.
6. D. Hautot, Q.A. Pankhurst, N. Khan, J. Dobson, "Preliminary evaluation of nanoscale biogenic magnetite in Alzheimer's disease brain tissue", *Proc. Biol Sci.*, vol. 270, no. 7, pp. 62–64, 2003.
7. D. Hautot, Q.A. Pankhurst, Ch.M. Morris, A. Curtis, "Preliminary observation of elevated levels of nanocrystalline iron oxide in the basal ganglia of neuroferritinopathy patients", *Biochem. Biophys. Acta*, vol. 1772(1), pp. 21–25, 2007.
8. A. Kobayashi, N. Yamamoto, J. Kirschvink, "Studies of Inorganic Crystals in Biological Tissue: Magnetite in Human Tumor", *Reprinted from Journal of the Japan Society of Powder and Powder Metallurgy*, no. 44, p. 94, 1997.
9. Чехун В.Ф., Горобец С.В., Горобец О.Ю., Дем'яненко І.В. Магнітні наноструктури в пухлинних клітинах. Застосування методів скануючої зондової мікроскопії для дослідження структурної організації магніточутливої фази в пухлинних клітинах карциноми Ерліха // Вісн. НАН України. – 2011. – № 11. – С. 13–20.
10. Чехун В.Ф., Горобец С.В., Горобец О.Ю., Дем'яненко І.В. Магніточутливі наноструктури ендogenous походження у клітинах карциноми Ерліха // Наноструктурное материаловедение. – 2011. – № 2. – С. 102–109.
11. S. Ullrich, M. Kube, S. Schübbe, R. Reinhardt, "A Hypervariable 130-Kilobase Genomic Region of Magnetospirillum gryphiswaldense Comprises a Magnetosome Island Which Undergoes Frequent Rearrangements during Stationary Growth", *J. Bacteriol.*, vol. 187(21), pp. 7176–7184, November 2005.
12. D. Murat, A. Quinlan, H. Vali, A. Komeili, "Comprehensive genetic dissection of the magnetosome gene island reveals the step-wise assembly of a prokaryotic organelle", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 107(12), pp. 5593–5598, 23 March 2010.

13. N. Zeytuni, E. Ozyamak, K. Ben-Harush, G. Davidov et al., "Self-recognition mechanism of MamA, a magnetosome-associated TPR-containing protein, promotes complex assembly", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 108(33):E480-7, 16 Aug 2011.
14. A. Komeili, H. Vali, T.J. Beveridge et al., "Magnetosome vesicles are present before magnetite formation, and MamA is required for their activation", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 101(11), pp. 3839–3844, 16 March 2004.
15. A. Scheffel, A. Gärdes, K. Grünberg, G. Wanner et al., "The Major Magnetosome Proteins MamGFDC Are Not Essential for Magnetite Biomineralization in *Magnetospirillum gryphiswaldense* but Regulate the Size of Magnetosome Crystals", *J. Bacteriol.*, vol. 190(1), pp. 377–386, January 2008.
16. A. Lohe, S. Ullrich, E. Katzmann, S. Borg et al., "Functional Analysis of the Magnetosome Island in *Magnetospirillum gryphiswaldense*: The mamAB Operon Is Sufficient for Magnetite Biomineralization", *PLoS One*, vol. 6(10), 2011.
17. D.A. Bazylinski., R.B. Frankel, "Magnetosome formation in prokaryotes", *Nature Reviews Microbiology*, vol. 2, pp. 217–230, 2004.
18. M. Richter, M. Kube, D.A. Bazylinski, T. Lombardot et al., "Comparative Genome Analysis of Four Magnetotactic Bacteria Reveals a Complex Set of Group-Specific Genes Implicated in Magnetosome Biomineralization and Function", *J. Bacteriol.*, vol. 189(13), pp. 4899–4910, July 2007.
19. S. Schübbe, C. Würdemann, J. Peplies, U. Heyen et al., "Transcriptional Organization and Regulation of Magnetosome Operons in *Magnetospirillum gryphiswaldense*", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 72(9), pp. 5757–5765, September 2006.
20. S. Schübbe, Ch. Würdemann, J. Peplies, U. Heyen et al., "Transcriptional organization and regulation of magnetosome operons in *Magnetospirillum gryphiswaldense*", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 72, no. 9, pp. 5757–5765, 2006.
21. F. Brem, A.M. Hirt, M. Winklhofer, K. Frei, Y. Yonekawa, H.-G. Wieser, J. Dobson, "Magnetic iron compounds in the human brain: a comparison of tumour and hippocampal tissue", *J. R. Soc. Interface*, no. 3, pp. 833–841, 2006.
22. M. Arthur, *Lesk Introduction to Bioinformatics*, – Oxford University Press Inc., 2002, 255 p.
23. G. Lyubartseva, J.L. Smith, W.R. Markesbery, M.A. Lovell, "Alterations of zinc transporter proteins ZnT-1, ZnT-4 and ZnT-6 in preclinical Alzheimer's disease brain", *Brain Pathol*, vol. 20(2), pp. 343–350, 2010.
24. A.A. Guffanti, Y. Wei, S.V. Rood, T.A. Krulwich, "An antiport mechanism for a member of the cation diffusion facilitator family: divalent cations efflux in exchange for K<sup>+</sup> and H<sup>+</sup>", *Mol. Microbiol.*, vol. 45, no. 1, pp. 145–153, 2002.
25. N. Kieper, K.M. Holmström, D. Ciceri, F.C. Fiesel, "Modulation of mitochondrial function and morphology by interaction of Omi/HtrA2 with the mitochondrial fusion factor OPA1", *Exp. Cell Res.*, vol. 15, no. 316(7), pp. 1213–1224, 2010.
26. R. Sultana, M. Perluigi and D.A. Butterfield, "Oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease (AD), mild cognitive impairment and animal models of AD: role of Abeta in pathogenesis", *Acta Neuropathol.*, vol. 118, no. 1, pp. 12009.