



УДК 577.152.6

МЕЖВИДОВЫЕ И МЕЖОРГАНЫЕ ВАРИАЦИИ В СОДЕРЖАНИИ ТРИПТОФАНИЛ-тРНК СИНТЕТАЗЫ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ: АНОМАЛЬНО ВЫСОКОЕ СОДЕРЖАНИЕ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *

О. О. Фаворова, Т. А. Заргарова, В. С. Рукосуев, С. Ф. Берестень

Введение. Аминоацил-тРНК синтетазы играют ключевую роль в синтезе белков, катализируя высокоспецифическое образование аминоацил-тРНК [1]. Кроме реакции аминоацилирования, ряд синтетаз катализирует синтез динуклеотида диаденозин-5',5'''-P¹,P⁴-тетрафосфата (Ar₄A), который, по-видимому, включается в контроль синтеза ДНК и клеточной пролиферации [2]. Известно, что различные органы и ткани характеризуются разными уровнями активности аминоацил-тРНК синтетаз [3], что может быть связано как с интенсивностью белкового синтеза и аминокислотным составом синтезируемых белков [4], так и с предполагаемыми регуляторными функциями ферментов этой группы. Использование иммунохимических методов позволяет прямо определять количество белка, которое далеко не во всех случаях совпадает с уровнем ферментативной активности. Определение количества триптофанил-тРНК синтетазы в различных органах крупного рогатого скота, проведенное с использованием поликлональных антител против бычьего фермента, выявило крайне высокое содержание триптофанил-тРНК синтетазы в поджелудочной железе — 2—3 % растворимых белков [5, 6]. Это количество, по данным работы [5], примерно в 100 раз превышало содержание фермента в таких органах крупного рогатого скота, как печень, почки, сердце, что привело к предположению о выполнении триптофанил-тРНК синтетазой в поджелудочной железе, помимо аминоацилирования тРНК, каких-то дополнительных неизвестных функций.

Целью этой работы было установить, является ли гиперпродукция триптофанил-тРНК синтетазы в поджелудочной железе общим свойством различных видов животных. Для иммунохимического анализа использовали моноклональные антитела Am1 против бычьей триптофанил-тРНК синтетазы, с высокой специфичностью узнающие триптофанил-тРНК синтетазы прокариот, археобактерий и эукариот [7, 8].

Материалы и методы. Материалами исследования служили поджелудочная железа и печень крупного рогатого скота, крысы, кролика и человека, свежие или замороженные при —70 °С.

Получение и очистка индивидуальной триптофанил-тРНК синтетазы из поджелудочной железы быка описано в [9], моноклональных антител Am1 — в [7]. Моноклональные антитела к I и III типам коллагена человека любезно предоставлены Г. Л. Идельсоном (ВКНЦ АМН СССР).

¹²⁵I-мечение Am1 (удельная активность (1—5)·10⁶ имп·мин⁻¹·мкг⁻¹) проводили конъюгацией с N-сукцинимидил-3-(4-окси, 5-[¹²⁵I]иодофенил)пропионатом (реактив

* Представлена членом редколлегии Л. Л. Киселевым.

Болтона—Хантера), как описано в [10]. Реактив получали с использованием хлорамин-Т по методу [11].

Радиоиммуноблотинг триптофанил-тРНК синтетазы в экстрактах тканей. Ткани мелко нарезают ножницами и гомогенизируют в ручном стеклянном гомогенизаторе в буфере А (20 мМ трис-НСl, рН 7,5, 25 мМ сахараза, 150 мМ КСl, 0,2 мМ ЭДТА, 0,2 мМ 2-меркаптоэтанол), к которому в ряде случаев добавляли тритон X-100 до 0,5 %, или в RIPA-буфере (20 мМ трис-НСl, рН 7,5, 1 мМ ЭДТА, 1 %-ный NP40, 1 %-ный дезоксихолат Na, 0,1 %-ный DS-Na, 0,15 М NaCl). Непосредственно перед использованием во все буферы добавляли ингибиторы протеаз: 0,3 мМ диизопропилфторфосфат и 2,5 мМ фенолметилсульфонилфторид. Гомогенаты тканей центрифугировали 30 мин при 15000 об/мин на «Eppendorf 5414» или 1 ч при 105000 g на «Spinco» в случае экстракции буфером А. Содержание белков в экстрактах определяли по [12] или [13], используя бычий сывороточный альбумин как стандарт. Белки надосадочных жидкостей разделяли электрофорезом в градиентном (7—22 %) полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии DS-Na [14] (пластины 9×12 см, толщина геля 1 мм), после чего их подвергали электропереносу в буфере (25 мМ трис, 192 мМ глицин, рН 8,3, 20 % (по объему) этанола) на нитроцеллюлозный фильтр BA85 («Schleicher und Schüll», ФРГ) в аппарате «Trans-blot cell» («Bio-Rad», США) в течение ночи (30 В; 0,1 А). Полноту переноса контролировали прокраской геля Кумасси. Фильтр выдерживали 1 ч в TBS (50 мМ трис-НСl, рН 7,5, 0,15 М NaCl), содержащем 0,1 %-ный твин-20 (Т-буфер), затем инкубировали 1 ч с 2 мл [¹²⁵I]AmI (10⁶ имп·мин⁻¹·мл⁻¹) в Т-буфере. От несвязавшегося [¹²⁵I]AmI фильтр отмывали 3 раза по 5 мин Т-буфером, 1 раз в течение 30 мин RIPA-буфером, споласкивали TBS, высушивали и подвергали радиоавтографии на пленке РТ-1 («Тасма», СССР). Участки фильтра, совпадающие с полосами радиоавтографа, вырезали и просчитывали в толуольном сцинтилляционном счетчике.

Иммунофлюоресцентная микроскопия. Кусочки тканей на фильтровальной бумаге быстро погружали в жидкий азот, переносили в криостат и получали серийные срезы толщиной 5 мкм. Нативные срезы или срезы, фиксированные в течение 5 мин в 96 %-ном этаноле, ацетоне, 4 %-ном формальдегиде, обрабатывали по непрямому иммунофлюоресцентному методу. Наилучшие результаты были получены при фиксации этанолом. Один из двух срезов инкубировали с AmI, другой (контрольный) — с моноклональными антителами к I и III типам коллагена в концентрации 0,1 мг/мл в течение 1 ч. После промывки TBS в течение 10 мин срезы инкубировали 1 ч с антителами к иммуноглобулинам мыши, меченым флюоресцентноцианатом («Sigma», США). Гистологическая структура, в частности наличие островков Лангерганса, прослеживалась при окраске тех же или серийных срезов гематоксилин-эозином. Срезы просматривали в микроскопе «Orthoplan» («Leitz», ФРГ) и фотографировали на пленку РФ-3.

Результаты и обсуждение. Авторы работы [5] использовали для определения количества триптофанил-тРНК синтетазы в экстрактах либо иммуноблотинг с проявлением антигена непрямым иммунопероксидазным методом и последующим сканированием, либо электроиммунный анализ по Лореллу [15]. Если первый из этих методов позволяет проводить только полуколичественные оценки, то второй обеспечивает количественное определение при работе или с полиспецифической антисывороткой и чистым антигеном, или с моноспецифической сывороткой при использовании антигена в смеси с другими, тогда как Саллафранк и др. [5] использовали оба компонента иммунохимической реакции в неочищенном виде. Поскольку полученные ими результаты могут иметь принципиальное значение, нам представлялось целесообразным применить для определения содержания триптофанил-тРНК синтетазы более надежный и адекватный метод. Мы использовали прямой радиоиммуноблотинг разделенных электрофорезом в денатурирующих условиях белков с [¹²⁵I]-меченым моноклональным антителом AmI, контролируя полноту переноса белков с геля на нитроцеллюлозу. Количество аминокислот-тРНК синтетазы в отдельных образцах определяли по радиоактивности связавшегося [¹²⁵I]AmI, работа в линейной области калибровочной кривой, построенной с использованием очищенной триптофанил-тРНК синтетазы (рис. 1).

В работе [5] определяли содержание триптофанил-тРНК синтетазы в растворимой фракции поджелудочной железы крупного рогатого скота. По данным иммуноморфологического определения [6], этот фермент в культивируемых клетках почки быка выявлен также в полисомах, прикрепленных к грубому эндоплазматическому ретикулуму и к наружным ядерным мембранам. На рис. 1, а, приведены данные по содержанию триптофанил-тРНК синтетазы в супернатанте гомогената

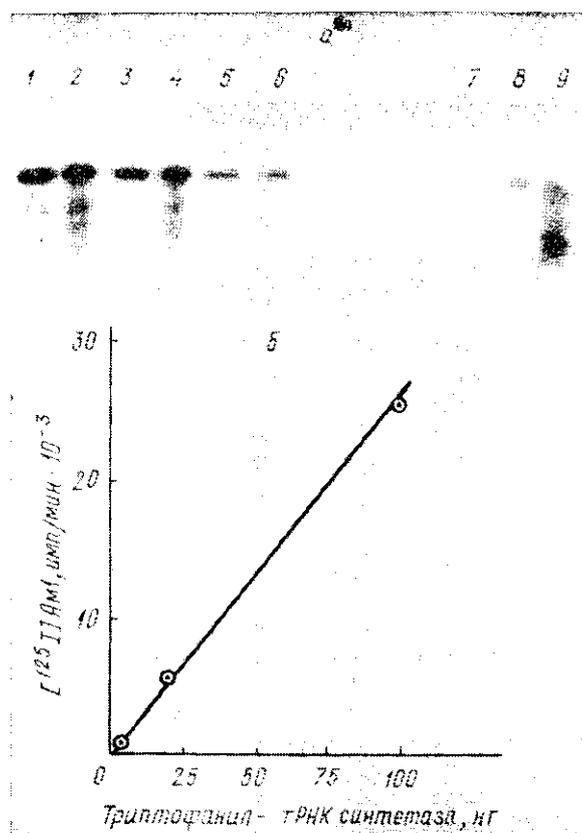


Рис. 1. Взаимодействие с ^{125}I -меченным моноклональным антителом Аml триптофанил-тРНК синтетазы из поджелудочной железы крупного рогатого скота после разделения электрофорезом в ПААГ в присутствии DS-Na: а — иммуноблоттинг экстрактов железы в буфере А (1, 2), в буфере А с 0,5 %-ным тритоном X-100 (3, 4) и RIPA-буфере (5, 6); на дорожки наносили по 10 (1, 3, 5) и 20 мкг (2, 4, 6) экстрагированного белка; центрифугировали гомогенаты при 105000 (1, 2) и 10000 g (3-6); 7-9 — очищенная триптофанил-тРНК синтетазы (2, 20 и 100 нг соответственно); экспозиция пленки РТ-1 12 ч; б — калибровочная кривая, построенная по связыванию ^{125}I Аml очищенной триптофанил-тРНК синтетазой (по данным рис. 1, а)

Fig. 1. Interaction of ^{125}I -labeled monoclonal antibody Aml with beef pancreas tryptophanyl-tRNA synthetase after SDS polyacrylamide gel electrophoresis: а) immunoblotting of pancreatic extracts in buffer А (1 and 2), buffer А plus 0,5 % Triton X-100 (3 and 4) and RIPA-buffer (5 and 6); homogenates were centrifuged at 105000 g (1, 2) and 10000 g (3-6); 1, 3 and 5—10 μg of

total protein; 2, 4 and 6—20 μg of total protein; 7, 8 and 9—purified tryptophanyl-tRNA synthetase (2, 20 and 100 ng, respectively); film exposure 12 h; б) calibration curve plotted from the data of (а) on binding of purified tryptophanyl-tRNA synthetase with ^{125}I Аml.

Таблица 1

Содержание триптофанил-тРНК синтетазы в различных экстрактах поджелудочной железы крупного рогатого скота *

Tryptophanyl-tRNA synthetase content in various extracts of bovine pancreas

Экстракция	Белок фракции, мкг/мг ткани	Триптофанил-тРНК синтетазы	
		нг/мкг экстрагированного белка (%)	нг/мг ткани
Надосадочная фракция гомогената в буфере А (при 105000 g)	11,2	2,39 (0,24)	26,8
Надосадочная фракция гомогената в буфере А в присутствии 0,5 %-ного тритона X-100 (при 10000 g)	14,4	1,62 (0,16)	23,3
Надосадочная фракция гомогената в RIPA-буфере (при 10000 g)	30,4	0,81 (0,08)	24,6

* Рассчитано из данных рис. 1 для одной и той же железы.

(при 105 000 g) поджелудочной железы крупного рогатого скота, полученном аналогично [5] (дорожки 1, 2), и во фракциях гомогената, растворимых в неионном (дорожки 3, 4) и в смеси неионных и ионного детергента (RIPA-буфере) (дорожки 5, 6, обозначено как суммарный белок). Во всех случаях, включая очищенную триптофанил-тРНК синтетазу, помимо основной белковой полосы — субъединицы фермента с молекулярной массой 60 000 — выявляются взаимодействующие с Ам1

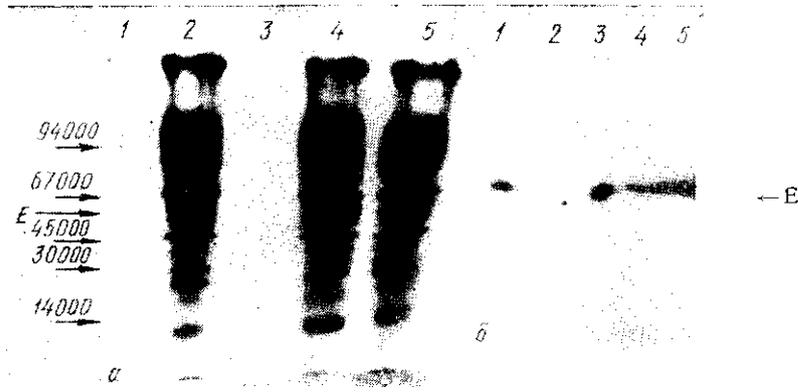


Рис. 2. Электрофорез в 7–22 %-ном ПААГ экстрактов органов быка (1, 2) и крысы (4, 5): 1, 4 — поджелудочная железа (20 и 300 мкг белка соответственно); 2, 5 — печень (по 300 мкг); 3 — 0,1 мкг очищенной триптофанил-тРНК синтетазы; а — гель окрашен 0,25 %-ным раствором Кумасси G-250 в 7,5 %-ной уксусной кислоте (слева стрелками обозначены положения белков-маркеров; цифры рядом — их молекулярные массы; E — положение триптофанил-тРНК синтетазы с молекулярной массой 60000); б — иммуноблоттинг с использованием $[^{125}\text{I}]\text{Am1}$; экспозиция пленки РТ-1 12 (1, 2) и 36 ч (3–5)

протеолизовавшие фрагменты синтетазы, на долю которых в сумме приходилось не более 10 % радиоактивности, связывающейся с интактной субъединицей. Количество триптофанил-тРНК синтетазы, выделенной из поджелудочной железы при различных методах экстракции, приведены в табл. 1. Для анализируемой железы содержание фермента в надосадочной фракции гомогената (при 105 000 g) составляет 0,24 %. При более жестких условиях экстракции количество триптофанил-тРНК синтетазы на 1 мг белка в экстрактах падает, однако содержание триптофанил-тРНК синтетазы в расчете на 1 мг ткани остается практически постоянным. Это означает, что растворимая фракция клеток, полученная без использования детергентов, содержит практически всю триптофанил-тРНК синтетазу клетки.

В дальнейшем анализировали RIPA-экстракты, что помимо удобства в работе снижает уровень эндогенного протеолиза (рис. 1).

Сопоставление содержания триптофанил-тРНК синтетазы в поджелудочной железе и в печени крупного рогатого скота подтверждает вывод [5] об очень большом превышении количества фермента в поджелудочной железе по сравнению с другими органами (рис. 2, дорожки 1, 2; обратите внимание на 15-кратную разницу в количестве суммарного белка). Однако такого феномена не наблюдали для другого вида животных — количества фермента в печени и поджелудочной железе крысы сопоставимы (рис. 2, дорожки 4, 5).

Содержание синтетазы как в печени, так и поджелудочной железе различалось для особей одного вида не более чем в 2–3 раза (рис. 3). В среднем для быка, в подтверждение вывода работы [5], наблюдали почти 70-кратное превышение количества этого фермента в поджелу-

дочной железе по сравнению с печенью; для крысы, равно как для кролика и человека, превышение было крайне незначительным — в 1,5—1,6 раза (табл. 2). Количество синтетазы во всех исследованных органах, за исключением бычьей поджелудочной железы, составляло 0,002—0,012 % суммарного белка. Мы приходим к заключению, что аномально высокое содержание триптофанил-тРНК синтетазы в поджелудочной железе не является общим свойством всех животных; если фермент и выполняет в этом органе какие-то дополнительные функции,

Рис. 3.

Рис. 3. Электрофорез и иммуноблоттинг экстрактов отдельных поджелудочных желез крупного рогатого скота (по 10 мкг суммарного белка)
 Fig. 3. Gel-electrophoresis and immunoblotting of extracts of individual bovine pancreatic glands (10 µg of total protein each)

отличные от известных, то они могут быть связаны с особенностями физиологии крупного рогатого скота.

Содержание триптофанил-тРНК синтетазы в бычьей поджелудочной железе, представленное в табл. 2 в процентах от суммарного белка, можно сопоставить с результатами работы [5], выраженными в процентах от растворимых белков, с помощью приведенных в табл. 1 данных об экстракции белков буфером А (растворимые белки) и RIPA-буфером (суммарный белок). Поскольку с использованием второго буфера можно извлечь из железы примерно в 3 раза больше белков, содержание триптофанил-тРНК синтетазы, по нашим данным, соответствует около 0,6 % растворимых белков. Эта усредненная величина примерно в 3 раза меньше приведенной в [5]; одним из возможных объяснений данного расхождения может быть вклад неспецифических взаимодействий при использовании в [5] двух неочищенных компонентов системы антиген — антитело (см. выше). С другой стороны, эти различия укладываются в пределы индивидуальных вариаций, а количество анализируемых в [5] животных неизвестно.

Для крупного рогатого скота мы не имели возможности сравнить количества триптофанил-тРНК синтетазы в отдельных органах одного и того же животного. Такое сравнение было сделано на крысах (табл. 3). Соотношение количеств синтетазы в поджелудочной железе и печени одного и того же животного колебалось от 0,7 до 4,5, что,

Таблица 2

Содержание триптофанил-тРНК синтетазы в поджелудочной железе (I) и печени (II) разных животных

Content of tryptophanyl-tRNA synthetase in pancreas (I) and liver (II) of different mammals

Животные	Орган	Число независимых определений	Суммарный белок, мкг	Содержание триптофанил-тРНК синтетазы		
				нг	% от суммарного белка	I/II
Крупный рогатый скот	I	10	10	20±12	0,20±0,12	66,7
	II	8	300	8±6	0,003±0,002	
Крыса	I	8	300	25±11	0,008±0,004	1,6
	II	8	300	16±10	0,005±0,004	
Кролик	I	2	300	9±6	0,003±0,002	1,5
	II	2	300	6±3	0,002±0,001	
Человек	I	2	300	36±15	0,012±0,005	1,5
	II	2	300	24±3	0,008±0,001	

скорее всего, отражает вариации в скоростях белкового синтеза в отдельных органах в зависимости от потребностей организма (см. [3]).

Локализацию триптофанил-тРНК синтетазы в клетках поджелудочной железы крупного рогатого скота определяли непрямым иммунофлюоресцентным методом. На срезах, инкубированных с Аm1, наблюдали четкое и яркое свечение (рис. 4, а, в). О его специфичности можно судить по контрольным срезам, обработанным моноклональными антителами к I и III типам коллагена человека, где основная

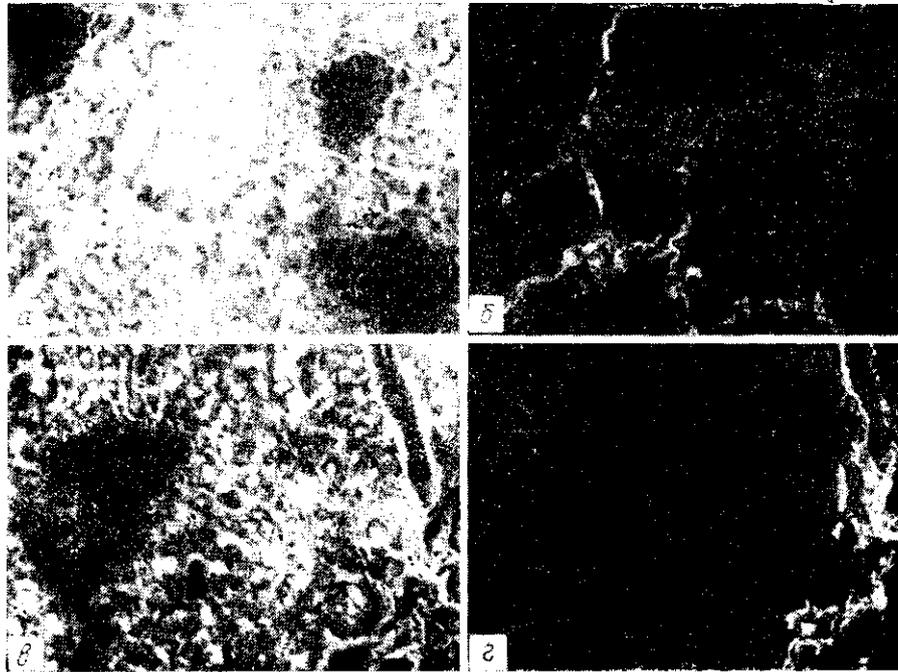


Рис. 4. Выявление триптофанил-тРНК синтетазы в поджелудочной железе быка на серийных криостатных срезах (попарно а, б и в, г) непрямым иммунофлюоресцентным методом (ув. 128): а, в — опыт; инкубация с моноклональными антителами Аm1 к бычьей триптофанил-тРНК синтетазе; специфическое свечение в эпителии экзокринной системы; панкреатические островки (а — три и в — один) остаются темными; б, г — контроль; инкубация с моноклональными антителами к I и III типам коллагена человека; специфическое свечение соединительнотканых структур (б, г) и стенок сосуда (г, справа)

Fig. 4. Visualization of bovine tryptophanyl-tRNA synthetase at two-serial cryostatic sections of pancreatic gland by the indirect immunofluorescent method (magnification $\times 128$): (а, в) — incubation with Aml; specific fluorescence of epithelium of exocrine part of the gland is visible; Langergands islands (а — 3 and в — 1) remain dark; (б and г) — control; incubation with antibodies against human collagene of types I and III; specific fluorescence of connective structures (б and г) and blood-vessel walls (г, to the right)

Таблица 3

Индивидуальные вариации в содержании триптофанил-тРНК синтетазы в поджелудочной железе (I) и печени (II) крыс

Individual variations in rat tryptophanyl-tRNA synthetase content in pancreas (I) and liver (II)

I		II		I/II	I		II		I/II
% от суммарного белка					% от суммарного белка				
0,004	0,006			0,67	0,011	0,003		3,67	
0,006	0,007			0,86	0,009	0,002		4,50	
0,006	0,008			0,75	0,008	0,008		0,75	
0,011	0,004			2,75	0,012	0,003		4,00	

часть среза остается темной (рис. 4, *г*). В последнем случае наблюдается лишь свечение соединительнотканых структур, что объясняется, судя по всему, наличием общих антигенных детерминант у коллагенов человека и крупного рогатого скота. В печени быка, а также в печени и поджелудочной железе крысы специфического свечения триптофанил-тРНК синтетазы не наблюдалось. Распределение этого антигена, аналогичное наблюдаемому в поджелудочной железе крупного рогатого скота, но с очень слабым свечением, было отмечено на срезах поджелудочной железы человека. Полученные отрицательные результаты могут быть связаны с недостаточной чувствительностью иммуноморфологического метода по сравнению с другими иммунологическими тестами. В целом, однако, результаты иммунофлюоресцентного анализа полностью подтверждают сделанный на основании радиоиммунного определения вывод о значительно более высоком содержании триптофанил-тРНК синтетазы в поджелудочной железе крупного рогатого скота в сравнении как с поджелудочной железой других исследованных животных, так и с гомологичной печенью.

Поджелудочная железа, как известно, состоит из двух различных по морфофункциональным характеристикам частей — экзо- и эндокринной. Как видно из рис. 4, *а*, *в*, триптофанил-тРНК синтетаза выявляется в ацинарных клетках экзокринной системы и, видимо, в выводных протоках. Островковый аппарат остается темным с едва контурируемыми ядрами; ядра клеток экзокринной системы также не окрашиваются. Преимущественная локализация триптофанил-тРНК синтетазы в экзокринной части поджелудочной железы, которая с высокой скоростью вырабатывает выделяемые в поджелудочный сок гидролитические ферменты [16], в принципе, может свидетельствовать о роли этой синтетазы в обеспечении необходимого уровня белкового синтеза. Удивительно высокое содержание триптофанил-тРНК синтетазы, характерное для поджелудочной железы именно крупного рогатого скота, может быть связано с особенностями пищеварения у жвачных животных. В работе [5] показано, что содержание другой аминокислот-тРНК синтетазы (метиониновой) несколько выше в печени, чем в поджелудочной железе, а количества тРНК^{Trp} в обоих органах близки между собой и сопоставимы с другими тРНК. Хотя эти результаты не исключают возможность того, что вследствие соотношения кинетических констант и концентраций субстратов *in vivo* высокие концентрации фермента необходимы для аминокислотирования тРНК^{Trp} в количествах, не лимитирующих белкового синтеза, кажется более вероятным, что триптофанил-тРНК синтетаза действительно выполняет какие-то неизвестные функции, особенно важные для пищеварения именно жвачных. Иммунолокализация фермента в выводных протоках заставляет допустить возможность его секреции в составе панкреатического сока. Следует отметить, однако, что речь может идти о секреции не обязательно целого фермента, но и его фрагментов, содержащих интактную N-концевую часть молекулы, на которой локализована антигенная детерминанта для Ам1 [7].

К сожалению, проверить гипотезу о секреции триптофанил-тРНК синтетазы на органах крупного рогатого скота не представилось возможным. Анализ методом иммуноблотинга с использованием [¹²⁵I] Ам1 дуоденального содержимого человека, состоящего из смеси желчи, панкреатического и кишечного соков, не выявил присутствия эпитопа фермента; однако, как указывалось выше, поджелудочная железа человека в сравнении с крупным рогатым скотом содержит почти в 20 раз меньше триптофанил-тРНК синтетазы, и эта постановка опыта не позволяет сделать окончательного вывода.

SPECIES AND TISSUE-SPECIFIC VARIATIONS IN DISTRIBUTION
OF MAMMALIAN TRYPTOPHANYL-tRNA SYNTHETASE:
AN ABNORMAL HIGH CONTENT IN BOVINE PANCREAS

O. O. Favorova, T. A. Zargarova, V. S. Rukosuev, S. F. Beresten

Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow
Institute of Experimental Cardiology
of the All-Union Cardiological Research Centre,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Summary

The content of tryptophanyl-tRNA synthetase has been determined in human, bovine, rat and rabbit liver and pancreatic extracts by direct radioimmunoblotting with ¹²⁵I-labelled monoclonal antibody. It was in bovine but not in other pancreas that the unusually high amount of tryptophanyl-tRNA synthetase was estimated (about 0.2 %).

According to the indirect immunofluorescent method, bovine tryptophanyl-tRNA synthetase is located in exocrine part of the pancreatic gland.

1. Киселев Л. Л., Фаворова О. О., Лаврик О. Н. Биосинтез белков от аминокислот до аминоацил-tPHK.— М.: Наука, 1984.— 408 с.
2. Zamecnik P. Diadenosine 5', 5'''-P¹, P⁴-tetrphosphate (Ap₄A): its role in cellular metabolism // Anal. Biochem.— 1983.— 134, N 1.— P. 1—10.
3. Dang Chuan V., Dang Chi V. Higher eukaryotic aminoacyl-tRNA synthetases in physiologic and pathologic states // Mol. and Cell. Biochem.— 1986.— 71, N 2.— P. 107—120.
4. Chavancy G., Marbaix G., Clauter Y. Effect of tRNA pool balance on rate and uniformity of elongation during translation of fibroin mRNA in a reticulocyte cell-free system // Biochimie.— 1981.— 63, N 7.— P. 611—618.
5. Tryptophanyl-tRNA synthetase is a major soluble protein species in bovine pancreas / M. L. Sallafranque, M. Garret, J.-P. Benedetto et al. // Biochim. et biophys. acta.— 1986.— 882, N 2.— P. 192—199.
6. Иммуноморфологическое и биохимическое изучение внутриклеточной локализации триптофанил-tPHK синтетазы высших организмов / Е. Л. Палей, В. Н. Баранов, Н. Е. Зиновьев, Л. Л. Киселев // Биополимеры и клетка.— 1985.— 1, № 2.— С. 70—79.
7. Моноклональные антитела к триптофанил-tPHK синтетазе / С. Ф. Берестень, Т. А. Заргарова, С. В. Костров, О. О. Фаворова // Молекуляр. биология.— 1984.— 18, № 5.— С. 1407—1411.
8. Триптофанил-tPHK синтетазы эукариот, прокариот и архебактерий имеют общую антигенную детерминанту / Т. А. Заргарова, С. Ф. Берестень, О. О. Фаворова, Л. Л. Киселев // Докл. АН СССР.— 1985.— 285, № 6.— С. 1484—1486.
9. Kisselev L. L., Favorova O. O., Kovaleva G. K. Tryptophanyl-tRNA synthetase from beef pancreas // Meth. Enzymol. - 1979.— 59.— P. 234—257.
10. Bolton A. E. Radioiodination techniques: Review 18 // Amersham Int.— London: Amersham, 1985.— P. 62.
11. Rudinger J., Ruegg U. Preparation of N-succinimidyl 3-(4-hydroxyphenyl) propionate // Biochem. J.— 1973.— 133, N 3.— P. 538—539.
12. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem.— 1976.— 72, N 1.— P. 248—254.
13. Ohnishi S. T., Barr I. K. A simplified method of quantitating protein using the Biuret and phenol reagents // Anal. Biochem.— 1978.— 86, N 1.— P. 193—200.
14. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature.— 1970.— 227, N 5259.— P. 680—685.
15. Laurell C. B. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies // Anal. Biochem.— 1966.— 15, N 1.— P. 45—52.
16. Бабкин Б. П. Секреторный механизм пищеварительных желез.— Л.: Медгиз, 1960.— 777 с.

Ин-т молекуляр. биологии АН СССР, Москва
Ин-т эксперим. кардиологии ВКНЦ АМН СССР, Москва

Получено 07.09.87