

Д. В. Гнатенко, А. И. Корнелюк, И. В. Курочкин, Г. Х. Мацука

**ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЙ ЛАБИЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС
ТИРОЗИЛ-тРНК СИНТЕТАЗЫ ИЗ ПЕЧЕНИ БЫКА**

Обнаружено, что в безрибосомном тканевом экстракте из печени быка тирозил-тРНК синтетаза находится в составе высокомолекулярного комплекса с $M_r > 10^6$. Диссоциация синтетазы из этого комплекса под влиянием протеолиза проходит через промежуточный лабильный комплекс с $M_r \sim 240\,000$, термостабильность тирозил-тРНК синтетазы в котором значительно выше, чем в свободном состоянии. K_M для тРНК^Т в реакции аминокислотирования в составе промежуточного комплекса тирозил-тРНК синтетазы (1,66 мкМ) близка к K_M для тРНК^Т очищенного свободного фермента (0,87 мкМ). В высокомолекулярном лабильном комплексе тирозил-тРНК синтетаза сохраняет неспецифическое сродство к высокомолекулярной рРНК.

Введение. Согласно современным представлениям, аминокислот-тРНК синтетазы высших эукариот обладают тенденцией к образованию макромолекулярных ассоциатов, состоящих из аминокислот-тРНК синтетаз разной специфичности, а также других компонентов (липиды, углеводы и т. д.) [1—5]. Стабильные ассоциаты аминокислот-тРНК синтетаз — кодосомы — обнаружены практически у всех высших эукариот и имеют константу седиментации 16 ÷ 28S, причем в состав ядра кодосомы обычно входят синтетазы, специфичные к Arg, Gln, Glu, Ile, Leu, Lys и Met [1—7]. Относительно других аминокислот-тРНК синтетаз данные являются крайне противоречивыми. Так, согласно Дойтчеру [3], при выделении в особо мягких условиях гомогенизации все 18 изученных аминокислот-тРНК синтетаз были ассоциированы в макромолекулярном комплексе. В последующих исследованиях, однако, было показано, что например, в клетках китайского хомячка аминокислот-тРНК синтетазы, специфичные к Ala, Asp, Ser, Trp и Tyr, находятся в свободном состоянии [8]. Обсуждается модель [4], по которой аминокислот-тРНК синтетазы этого класса ассоциируют с субклеточными структурами индивидуально, тогда как ферменты, входящие в состав стабильного ядра кодосомы, связываются с субклеточными структурами как предварительно собранный комплекс.

В некоторых случаях (аргинил-тРНК синтетаза из печени крыс [9], метионил-тРНК синтетаза из печени кролика [10]) синтетазы обнаруживаются как в составе кодосомы, так и в виде свободных форм, являющихся результатом эндогенного ограниченного протеолиза.

Целью данной работы было изучение возможности ассоциации тирозил-тРНК синтетазы (КФ 6.1.1.1) из печени быка в высокомолекулярные комплексы в клеточном экстракте; ранее этот фермент, по предположению авторов [8, 16, 17], находился в свободном состоянии. Тирозил-тРНК синтетаза из печени быка представляет собой структурный димер α_2 -типа с $M_r 2 \times 60\,000$ [11]. Вызвало интерес изучение стабильности таких ассоциатов и возможной роли ограниченного протеолиза в переходе синтетазы из ассоциированного в свободное состояние, а также сравнение каталитических характеристик фермента в составе комплекса и в свободном состоянии.

Материалы и методы. Выделение высокомолекулярного комплекса тирозил-тРНК синтетазы в присутствии ингибитора протеаз фенилметилсульфонилфторида (ФМСФ). Печень быка брали через 20—30 мин после забоя животного и хранили при 2 °С на льду без замораживания. Все процедуры по выделению проводили при 4 °С. 70 г ткани измельчали дважды на мясорубке, затем добавляли 200 мл буфера I (0,02 М трис-НСl, рН 7,8, 2,5 мМ MgCl₂, 0,32 М сахароза, 0,2 мМ дитиотреитол, 0,2 мМ ФМСФ) и перемешивали на магнитной мешалке 30 мин. Далее

© Д. В. ГНАТЕНКО, А. И. КОРНЕЛЮК, И. В. КУРОЧКИН, Г. Х. МАЦУКА, 1991

материал центрифугировали при 3000 *g* в течение 40 мин. Полученный супернатант фильтровали через четыре слоя марли и центрифугировали при 105 000 *g* в течение 1 ч 15 мин. Отбирали супернатант и определяли в нем содержание белков и нуклеиновых кислот спектрофотометрически, используя метод Варбурга [12].

Гель-фильтрацию полученного супернатанта проводили на колонке с сефадексом G-150 (размеры колонки 1,1×100 см), предварительно уравновешенной буфером II (0,01 М трис-HCl, pH 7,8, 2,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ дитиотреитол, 0,1 мМ ФМСФ). На колонку наносили 1 мл полученного супернатанта с концентрацией белка около 30 мг/мл, гель-фильтрацию осуществляли со скоростью 15 мл/ч. УФ-поглощение регистрировали на длинах волн 260, 280 и 320 нм, соответствующих максимумам поглощения нуклеиновых кислот и белков и светорассеянию высокомолекулярных агрегатов, используя спектрофотометр «Spectord UV VIS» (ГДР). Активность тирозил-тРНК синтетазы в реакции аминокислотирования тРНК^{Tyr} и в реакции АТР [³²P] пирофосфатного обмена определяли, как описано ранее [11].

Выделение высокомолекулярного комплекса тирозил-тРНК синтетазы в присутствии двух ингибиторов протеаз. 20 г ткани печени измельчали на мясорубке, затем добавляли 40 мл буфера III (0,02 М трис-HCl, pH 7,8, 2,5 мМ MgCl₂, 0,3 М сахараза, 7 мМ β-меркаптоэтанол, 1 мМ ФМСФ, 1 мМ диизопротилфторфосфат (ДФФ)), перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 мин. Далее проводили центрифугирование при 12 000 об/мин в течение 10 мин, полученный супернатант затем центрифугировали при 105 000 *g* в течение 1 ч (фракция S-105). Гель-фильтрацию супернатанта осуществляли на колонке с сефакрилом S-200 (1×87 см). На колонку наносили 0,8 мл супернатанта, гель-фильтрацию вели со скоростью 2,7 мл/ч. Для элюции использовали буфер IV (0,01 М трис-HCl, pH 7,8, 2,5 мМ MgCl₂, 7 мМ β-меркаптоэтанол, 1 мМ ФМСФ, 1 мМ ДФФ). В полученных фракциях определяли активность как тирозил-тРНК синтетазы, так и лейцил-тРНК синтетазы, которая, как правило, входит в состав кодосом [2, 3, 13].

Термоинактивация фермента. Кинетику тепловой инактивации изучали для высокомолекулярной и свободной форм тирозил-тРНК синтетазы, как описано в работе [14]. Термоинактивацию фермента проводили при 42 °С смеси, содержащей 0,02 М трис-HCl, pH 7,8, 50 мМ KCl, 2,5 мМ MgCl₂.

Иммобилизация рРНК на сефарозе. 16S рРНК *Escherichia coli* иммобилизовали на ВгCN-активированной сефарозе, как описано в работе [15].

Реактивы. В работе использовали: трис, дитиотреитол («Serva», ФРГ); АТР, ФМСФ («Calbiochem», Швейцария); ДФФ («Fluka», Швейцария); сефадекс G-150, сефакрил S-200 («Pharmacia», Швеция); β-меркаптоэтанол, MgCl₂ («Merck», ФРГ); KCl, сахараза — квалификации х.ч. (СССР); глицерин квалификации ч.д.а., перегнанный или производства «Serva» (ФРГ). Растворы готовили на деионизованной воде. Применяли радиоактивные изотопы: L-[¹⁴C]тирозин (13,3 ТБк/моль), L-[¹⁴C]лейцин (9,3 ТБк/моль) производства «UVVVR» (ЧССР), [³²P]пирофосфат аммония (37 ПБк/моль, производства «Радиофармацевт» ИЯФ АН УзССР, СССР). В качестве белков-маркеров использовали: каталазу (240 000), бычий сывороточный альбумин (67 000) производства «Serva» (ФРГ), альдолазу (150 000) и β-амилазу (200 000) производства «Sigma» (США).

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приведены результаты гель-хроматографии на сефадексе G-150 безрибосомного экстракта печени быка, полученного в присутствии только одного ингибитора протеаз — ФМСФ. Тирозил-тРНК синтетазная активность элюируется несколько раньше маркерного белка каталазы во фракции, соответствующей мо-

лекулярной массе около 260 000 (рис. 1, *a*). Пик активности в реакции аминокислотирования тРНК^{Tyr} практически совпадает с пиком активности в реакции АТР [³²P]пирофосфатного обмена (рис. 1, *a*). Свободная форма тирозил-тРНК синтетазы из печени быка, как показано нами ранее [11], при гель-фильтрации на сефадексе G-150 всегда элюируется во фракции, соответствующей $M_r \sim 120\,000$. Следовательно, в безрибосомном экстракте печени быка тирозил-тРНК синтетаза находится

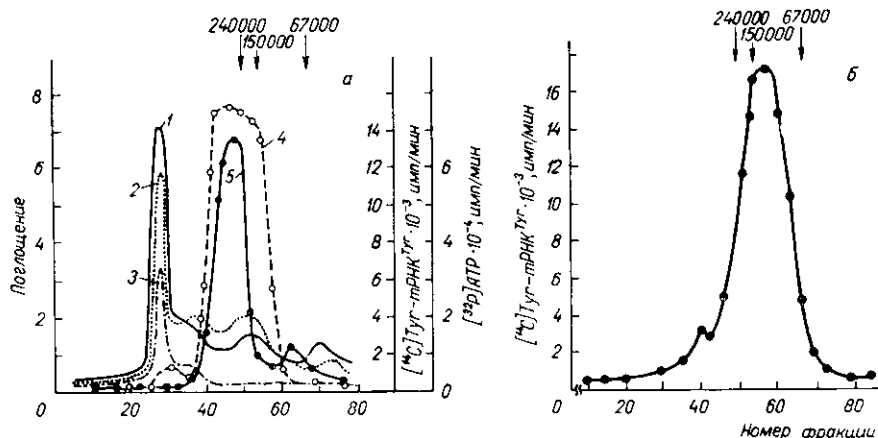


Рис. 1. Гель-фильтрация пострибосомального экстракта печени быка на колонке с сефадексом G-150: *a* — экстракт, не подвергавшийся замораживанию; *б* — экстракт, замороженный в жидком азоте при -196°C (1 — A_{260} , 2 — A_{280} , 3 — A_{320} , 4 — [¹⁴C]Тур-тРНК^{Tyr} · 10⁻³ имп/мин, 5 — [³²P]АТР · 10⁻⁴ имп/мин)

Fig. 1. Gel-filtration of postribosomal extract from bovine liver on the Sephadex G-150 column: *a* — extract obtained without freezing; *б* — liver extract frozen in the liquid nitrogen at -196°C . 1 — A_{260} , 2 — A_{280} , 3 — A_{320} , 4 — [¹⁴C]Tyr-tRNA^{Tyr} · 10⁻³ cpm/min, 5 — [³²P]ATP · 10⁻⁴ cpm/min

в ассоциированном состоянии в виде комплекса с M_r около 260 000. Ранее такой комплекс при выделении тирозил-тРНК синтетаз из других объектов не обнаруживался [16, 17].

Основной комплекс аминокислот-тРНК синтетаз (кодосома) элюируется в свободном объеме колонки (фракции 25—29, рис. 1, *a*) и характеризуется значительным возрастанием кажущегося оптического поглощения при длине волны 320 нм, обусловленного светорассеянием. Тирозил-тРНК синтетазная активность в этих фракциях полностью отсутствует (рис. 1, *a*), т. е. можно сделать вывод о том, что в этих условиях выделения (в присутствии только одного ингибитора протеаз — ФМСФ) тирозил-тРНК синтетаза не ассоциирована с кодосомой.

В комплексе с $M_r \sim 260\,000$ тирозил-тРНК синтетаза может быть ассоциирована с различными компонентами, например с тРНК. Однако измеренное по УФ-спектру поглощения отношение $A_{280}/A_{260} = 1,806$ для тирозил-тРНК синтетазы в составе этого комплекса, что характерно для чистого белка, практически свободного от примесей нуклеиновых кислот.

Отличительной особенностью обнаруженной высокомолекулярной формы тирозил-тРНК синтетазы из печени быка является ее высокая лабильность. При последующей ионообменной хроматографии высокомолекулярного комплекса на ДЭАЭ-целлюлозе при pH 7,8 тирозил-тРНК синтетаза переходит в форму с M_r около 124 000, соответствующей свободной форме фермента (данные не приведены).

Обнаружено, что высокомолекулярный комплекс тирозил-тРНК синтетазы является неустойчивым при замораживании и последующем размораживании ткани печени. После замораживания при дальнейшей гель-фильтрации экстракта на сефадексе G-150 тирозил-тРНК синтетазная активность элюируется во фракции, соответствующей молекулярной массе около 120 000 (рис. 1, *б*).

Возникает вопрос, изменяются ли каталитические характеристики тирозил-тРНК синтетазы из печени быка в составе высокомолекулярного лабильного комплекса по сравнению со свободным ферментом? Мы определили величины констант Михаэлиса тРНК^{Тyr} в реакции аминоацилирования для высокомолекулярной формы фермента и для его свободной формы, полученной путем замораживания и последующего размораживания безрибосомного экстракта (рис. 2, а, б). Для высокомолекулярной формы K_M тРНК^{Тyr} составляет 1,66 мкМ, а для свободной формы безрибосомного экстракта — 0,87 мкМ. Последняя величина близка к K_M для тРНК^{Тyr} очищенного фермента (0,75 мкМ), полученной нами ранее [11]. Таким

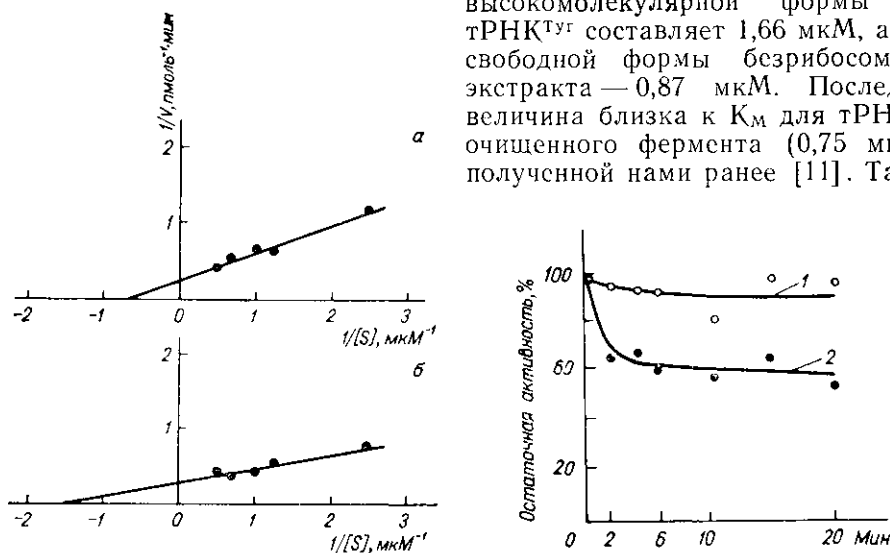


Рис. 2. Графики Лайнуивера—Берка для определения K_M для тРНК^{Тyr} в реакции аминоацилирования тРНК, катализируемой высокомолекулярным лабильным комплексом тирозил-тРНК синтетазы (а) и свободным ферментом (б)

Fig. 2. The Lineweaver-Burk plots of K_M determination for tRNA^{Tyr} in the aminoacylation reaction of tRNA catalyzed by high molecular weight complex of tyrosyl-tRNA synthetase (a) and by free tyrosyl-tRNA synthetase (b)

Рис. 3. Кинетика термоинактивации тирозил-тРНК синтетазы из печени быка в реакции аминоацилирования тРНК^{Тyr} для высокомолекулярного лабильного комплекса синтетазы (1) и для свободного фермента (2)

Fig. 3. Kinetics of thermoinactivation of tyrosyl-tRNA synthetase from bovine liver in the reaction of aminoacylation of tRNA^{Tyr} for high molecular weight labile complex of synthetase (1) and for free tyrosyl-tRNA synthetase (2)

образом, можно сделать вывод о том, что в составе высокомолекулярной лабильной формы каталитические свойства тирозил-тРНК синтетазы существенно не изменяются по сравнению со свободным ферментом.

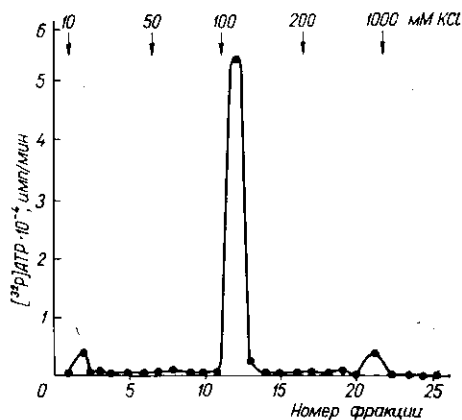
Далее было проведено сравнение кинетики тепловой инактивации высокомолекулярного комплекса и свободной формы тирозил-тРНК синтетазы. Термоинактивацию проводили при 42 °С, препараты фермента прогревали на водяной бане в течение 0, 2, 4, 6, 10, 15 и 20 мин и измеряли остаточную активность в реакции аминоацилирования тРНК^{Тyr} (рис. 3). Константа термоинактивации синтетазы в составе высокомолекулярного комплекса ($K_{инакт} = 0,020 \pm 0,008$) приблизительно в 4 раза ниже таковой, полученной для свободного фермента ($K_{инакт} = 0,086 \pm 0,050$), что свидетельствует о большей стабилизации структуры фермента в составе высокомолекулярного комплекса.

Ранее нами показано, что характерной особенностью тирозил-тРНК синтетазы из печени быка является ее неспецифическое сродство к высокомолекулярной рРНК: синтетаза практически полностью сорбировалась на колонке с рРНК-сефарозой и элюировалась 100 мМ КСl [11]. Согласно современным представлениям о компартиментализации эукариотического аппарата трансляции [18], сродство аминоацил-тРНК синтетаз эукариот к рРНК является эволюционно приобретенным свой-

ством и необходимо для их локализации на рибосомах. Для проверки, сохраняется ли полностью сродство к рРНК-сефарозе у высокомолекулярной лабильной формы тирозил-тРНК синтетазы из печени быка, мы провели хроматографию высокомолекулярного комплекса на колонке с рРНК-сефарозой (рис. 4). Обнаружено, что высокомолекулярный комплекс практически полностью сорбируется на колонке с рРНК-сефарозой, уравновешенной буфером, содержащим 100 мМ КСl. При ступенчатой элюции тирозил-тРНК синтетазная активность элюируется 100 мМ КСl, что совпадает с условиями элюции свободного фермента

Рис. 4. Хроматография высокомолекулярной формы тирозил-тРНК синтетазы на колонке с рРНК-сефарозой. На колонку объемом 100 мкл нанесли 50 мкг белка, элюцию проводили буферами, содержащими 50, 100, 200 и 1000 мМ КСl

Fig. 4. Chromatography of high molecular weight form of tyrosyl-tRNA synthetase on the rRNA-Sepharose column. 50 μ g of protein were loaded on the column with volume of 100 μ l. Elution was performed by buffers with 50, 100, 200 and 1000 mM KCl.



[11]. Таким образом, в составе высокомолекулярного комплекса тирозил-тРНК синтетазы, по-видимому, сохраняет неспецифическое сродство к высокомолекулярным рРНК.

В связи с этим неясно, существует ли обнаруженный нами комплекс тирозил-тРНК синтетазы с M_r около 240 000 *in vivo* наряду с кодосомой или же он может быть продуктом распада комплекса с более сложной организацией? Известно, что одним из основных механизмов разрушения макромолекулярных ассоциатов является эндогенный ограниченный протеолиз. Поэтому для более полного ингибирования протеолиза было проведено выделение высокомолекулярной формы тирозил-тРНК синтетазы в присутствии двух ингибиторов протеаз: ФМСФ и ДФФ.

Гель-хроматография фракции S-105, полученной в присутствии двух ингибиторов протеаз ФМСФ и ДФФ, на колонке с ссфакрилом S-200 показывает (рис. 5, а), что тирозил-тРНК синтетазная активность элюируется в свободном объеме колонки (кривая 2) и практически совпадает с пиком элюции лейцил-тРНК синтетазы (рис. 5, а, кривая 3). Как известно, лейцил-тРНК синтетазы входит в состав кодосомы, имеющей молекулярную массу более 10^6 [2, 3, 13]. Таким образом, более полное ингибирование протеолиза при использовании двух ингибиторов протеаз ФМСФ и ДФФ позволило обнаружить, что тирозил-тРНК синтетазы также ассоциирована с кодосомой. Существование других макромолекулярных ассоциатов, включающих тирозил-тРНК синтетазы и отличных от кодосомы, но имеющих такую же молекулярную массу, представляется маловероятным. Полученные нами данные подтверждают модель Дойтчера [3], предполагающую, что в тканях многоклеточных организмов практически все аминоксил-тРНК синтетазы ассоциированы между собой в высокомолекулярном агрегате, и противоречат модели Валлера [4], согласно которой «свободные» аминоксил-тРНК синтетазы, не входящие в ядро кодосомы, ассоциируют с субклеточными структурами индивидуально.

При выделении фракции S-105 в присутствии только ФМСФ активность тирозил-тРНК синтетазы обнаруживается во фракции, соответствующей M_r около 220 000—240 000 (рис. 5, б, кривая 2), т. е. из высокомолекулярного агрегата выщепляется лабильный комплекс ти-

розил-тРНК синтетазы, тогда как элюция лейцил-тРНК синтетазы практически не изменяется (рис. 5, б, кривая 3).

Таким образом, можно заключить, что при более полном ингибировании протеолиза в присутствии ФМСФ и ДФФ бычья тирозил-тРНК синтетаза ассоциирована в высокомолекулярный агрегат, по-видимому, включающий ядро кодосомы, но при неполном ингибировании протеолиза (в присутствии только ФМСФ) происходит отщепление лабильного комплекса, имеющего молекулярную массу около 240 000, состоя-

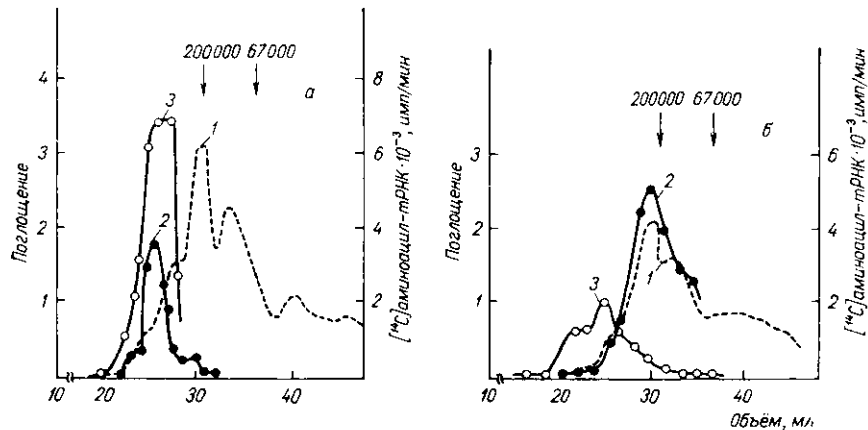


Рис. 5. Гель-хроматография фракции S-105, полученной в присутствии двух ингибиторов протеаз ФМСФ и ДФФ (а) и в присутствии только ФМСФ (б) на колонке с сефакилом S-200: 1 — A_{280} , 2 — $[^{14}\text{C}]$ Тур-тРНК $\cdot 10^{-3}$ имп/мин, 3 — $[^{14}\text{C}]$ Leu-тРНК $\cdot 10^{-3}$ имп/мин

Fig. 5. Gel-filtration of S-105 fraction obtained in the presence of two protease inhibitors PMSF and DIFP (a) and in the presence of PMSF only (b) on the column with Sephacryl S-200: 1 — A_{280} , 2 — $[^{14}\text{C}]$ Тур-tRNA $\cdot 10^{-3}$ cpm/min, 3 — $[^{14}\text{C}]$ Leu-tRNA $\cdot 10^{-3}$ cpm/min

щего из тирозил-тРНК синтетазы и других клеточных компонентов. Такое протеолитическое расщепление, вероятно, не затрагивает полипептидной цепи самой тирозил-тРНК синтетазы, так как молекулярная масса ее основной формы при выделении в присутствии только ФМСФ и при использовании обоих ингибиторов ФМСФ и ДФФ одинакова и составляет 60 000 [19].

По аналогии с работами [20, 21], в которых изучен состав высокомолекулярного комплекса валил-тРНК синтетазы из печени кролика, возникает предположение о том, что высокомолекулярный лабильный комплекс тирозил-тРНК синтетазы может включать другие белки аппарата трансляции, например, субъединицы фактора элонгации *eEF-1H*, имеющие молекулярные массы 50 000, 40 000 и 30 000.

Характерно, что сходный комплекс некодосомного типа недавно обнаружен для метионил-тРНК синтетазы из дрожжей [22] и также отличался высокой лабильностью.

Резюме

Виявлено, що в безрибосомному тканинному екстракті з печінки бика тирозил-тРНК синтетаза знаходиться у складі високомолекулярного комплексу з $M_r > 10^6$. Дисоціація синтетази із цього комплексу під впливом протеолізу проходить через проміжний лабільний комплекс з $M_r \sim 240\,000$, термостабільність тирозил-тРНК синтетази у якому значно вища, ніж у вільному стані. K_m для тРНК $^{\text{Tyr}}$ в реакції аміноацилювання у складі проміжного комплексу тирозил-тРНК синтетази (1,66 мкМ) близька до K_m для тРНК $^{\text{Tyr}}$ очищеного вільного ферменту (0,87 мкМ). У високомолекулярному лабільному комплексі тирозил-тРНК синтетаза зберігає неспецифічну спорідненість до високомолекулярної рРНК.

Summary

The tyrosyl-tRNA synthetase in postribosomal bovine liver supernatant is included as a compound of the high molecular weight complex with $M_r > 10^6$ Da. Dissociation of tyrosyl-tRNA synthetase from this complex due to proteolysis proceeds through the intermediate labile complex with $M_r \sim 240$ kDa. The thermostability of tyrosyl-tRNA synthetase at this intermediate labile complex is much higher in comparison with free enzyme. The labile intermediate complex of bovine liver tyrosyl-tRNA synthetase possesses the non-specific affinity for high molecular weight ribosomal RNA.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Киселев Л. Л., Фаворова О. И., Лаврик О. И. Биосинтез белков от аминокислот до аминоацил-тРНК.— М.: Наука, 1984.— 408 с.
2. Dang C. V., Johnson D. L., Yang D. C. V. High molecular mass aminoacyl-tRNA synthetase complexes in eukaryotes // FEBS Lett.— 1982.— 142, N 1.— P. 1—6.
3. Bandyopadhyay A. K., Deutscher M. P. Complex of aminoacyl-tRNA synthetases // J. Mol. Biol.— 1971.— 60, N 1.— P. 113—122.
4. Cirakoglu B., Mirande M., Waller J.-P. A model the structural organization of aminoacyl-tRNA synthetases in mammalian cells // FEBS Lett.— 1985.— 183, N 1.— P. 185—190.
5. Dang C. V., Dang C. V. Multienzyme complexes of eukaryotic aminoacyl-tRNA synthetases // BioSci. Repts.— 1983.— 3, N 3.— P. 185—190.
6. Hampel A. E., Enger M. D. Subcellular distribution of aminoacyl-tRNA synthetases in Chinese hamster ovary cell culture // J. Mol. Biol.— 1973.— 79, N 1.— P. 285—293.
7. Roberts W. K., Olsen M. L. Studies on the formation and stability of aminoacyl-tRNA synthetase complexes from Ehrlich ascites cells // Biochim. et biophys. acta.— 1976.— 454, N 2.— P. 480—492.
8. Ritter P. O., Enger M. D., Hampel A. E. Characterization of postribosomal aminoacyl-tRNA synthetases in cultured Chinese hamster ovary cells // Ibid.— 1979.— 562, N 2.— P. 377—385.
9. Vellekamp G., Sihag R. K., Deutscher M. P. Comparison of the complexed and free forms of rat liver arginyl-tRNA synthetase and origin the free form // J. Biol. Chem.— 1985.— 260, N 17.— P. 9843—9847.
10. Siddiqui F., Yang D. C. H. Generation of multiple forms of methionyl-tRNA synthetase from the multi-enzyme complex of mammalian aminoacyl-tRNA synthetases by endogenous proteolysis // Biochim. et biophys. acta.— 1985.— 828, N 1.— P. 177—187.
11. Корнелик А. И., Курочкин И. В., Мацука Г. Х. Тирозил-тРНК-синтетаза из печени быка. Выделение и физико-химические свойства // Молекуляр. биология.— 1988.— 22, № 1.— С. 176—186.
12. Warburg O., Christian W. Isolierung und Kristallization des Garungsfermente Enolase // Biochem. Z.— 1941.— 310, N 2.— S. 384—421.
13. Dang C. V., Yang D. C. H. Disassembly and gross structure of particulate aminoacyl-tRNA synthetases from rat liver. Isolation and the structural relationship of synthetase complexes // J. Mol. Biol.— 1979.— 254, N 3.— P. 5350—5356.
14. Негруцкий Б. С., Ельская А. В. Особенности тепловой инактивации лейцил-тРНК-синтетазы из печени кролика в присутствии различных конформеров тРНК // Молекуляр. биология.— 1984.— 5, № 5.— С. 1297—1300.
15. RNA-binding proteins of rabbit reticulocytes. Isolation and electrophoretic characteristics // L. P. Ovchinnikov, T. A. Seriakova, A. T. Avanesov et al. // Eur. J. Biochem.— 1978.— 90, N 3.— P. 517—525.
16. Prasad Rao Y. S., Srinivasan P. R. Purification and properties of tyrosyl-tRNA synthetase of rat liver // Nucl. Acids Res.— 1977.— 4, N 11.— P. 3887—3900.
17. Deák F., Denes G. Purification and some properties of rat liver tyrosyl-tRNA synthetase // Biochim. et biophys. acta.— 1978.— 526, N 3.— P. 626—634.
18. Спирин А. С., Овчинников Л. П. Компарментализация белков аппарата трансляции на эукариотических полирибосомах // Перспективы биоорг. химии и молекуляр. биологии.— М.: Наука, 1986.— С. 59—67.
19. Tyrosyl-tRNA synthetases from beef liver: generation of multiple enzyme forms by endogenous proteolysis // I. V. Kurochkin, T. A. Ribkinska, D. V. Gnatenko et al. // Int. seminar on interferon and biotechnol.: Abstr.— Havana, 1989.— P. S06—066.
20. Purification of valyl-tRNA synthetase high-molecular-mass complex from rabbit liver // Yu. A. Motorin, A. D. Wolfson, A. F. Orlovsky, K. L. Gladilin // FEBS Lett.— 1987.— 200, N 2.— P. 363—365.
21. Mammalian valyl-tRNA synthetase forms a complex with the first elongation factor // Yu. A. Motorin, A. D. Wolfson, A. F. Orlovsky, K. L. Gladilin // Ibid.— 1988.— 238, N 2.— P. 262—264.
22. Cytoplasmic methionyl-tRNA synthetase from bakers yeast. A monomer with a post-translationally modified N-terminus // F. Fasiolo, B. Gibson, P. Walter et al. // J. Biol. Chem.— 1985.— 260.— P. 15571—15576.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 17.10.89