

Роль резидентных макрофагов в механизме клеточной пролиферации и опухолевого роста

Панин Л.Е.

Role of resident macrophages in mechanisms of cells proliferation and cancerogenesis

Panin L.Ye.

НИИ биохимии СО РАМН, г. Новосибирск

© Панин Л.Е.

Введение

Известно, что в условиях функционального напряжения в отдельных органах и системах усиливаются деструктивные процессы, скорость которых характеризует восстановительную регенерацию тканей. При любых воздействиях на организм, приводящих к повреждению тканей, запускается процесс репаративной регенерации, в основе которого лежит усиление клеточной пролиферации. Общим для всех процессов является усиление биосинтеза белка [11].

Ранее было показано, что процессы регенерации в организме зависят от активации резидентных макрофагов [3]. Захватывая продукты деградации клеток, они кооперативно поглощают ЛПВП и стероидные гормоны. В клетке последние восстанавливаются с образованием тетрагидросоединений, а ЛПВП при участии лизосомальных гидролаз разрушаются. Освободившийся аполипопротеин A_1 с высоким аффинитетом образует комплекс со стероидными гормонами, который попадает в интерстициальное пространство, а затем в соматические клетки. Происходит усиление экспрессии генов и скорости биосинтеза белка в них [7]. Однако было не ясно, лежит ли этот механизм в основе редупликации ДНК и клеточной пролиферации.

Самой высокой пролиферативной активностью обладают опухолевые клетки. Известно, что формирование опухоли во многом зависит от активности инфильтрующих их макрофагов [15]. Но оставалось не ясным, в чем проявляется участие макрофагов в усилении клеточного роста и от каких факторов это зависит. Исследования влияния липопротеинов на биосинтез белка и ДНК в опухолевых клетках, по-видимому, никем ранее не проводились. Однако встречаются работы, посвященные изучению влияния ЛПВП на пролиферацию опухолевых клеток. Так, M. Rothender и G. Kostner [19] показали, что опухолевые клетки грудной железы, как гормонозависимые, так и гормононезависимые, активно пролиферируют под влиянием ЛПВП. ЛПВП₃ стимулировали включение меченого тимидина в ДНК опухолевых клеток линии A549, а также усиливали их пролиферацию [14]. В клетках линии Hep G2 ЛПВП повышали скорость образования мРНК ApoA₁ [18]. Механизм этого влияния на опухолевые клетки до сих пор не раскрыт.

В данной работе была поставлена задача показать, что в основе усиления пролиферативных процессов в нормальных и опухолевых клетках лежит активация макрофагов под влиянием ЛПВП и стероидных гормонов, связанная

с формированием биологически активного комплекса «тетрагидрокортизол — АпоА_I».

Материал и методы

Выделение липопротеинов. Исследование выполнено на крысах линии Вистар ($n = 50$) массой 180–200 г, содержащихся на стандартной лабораторной диете. Липопротеины сыворотки крови выделяли с помощью ультрацентрифугирования после освобождения от хиломикрон [16]. Получали соответственно ЛПОНП ($0,94 < d < 1,006$ г/мл), ЛПНП ($1,006 < d < 1,063$ г/мл), ЛПВШ ($1,063 < d < 1,125$ г/мл), ЛПВП₃ ($1,125 < d < 1,21$ г/мл). В дальнейшем работали с фракцией ЛПВП₃. Делипидирование ЛП проводили охлажденной смесью хлороформа и метанола (1 : 1) с последующей многократной отмывкой эфиром. Смесь Апо-ЛПВП наносили на колонку ($1,6 \times 100$ см) с сефарозой 6В CL «Pharmacia» (Швеция) и элюировали 0,01 моль трис-НСI буфером, pH = 8,6, содержащим 6 моль мочевины, 0,01% азида натрия и 1 ммоль фенилметан-сульфоната фторида (ФМСФ). Профиль элюции регистрировали на УФ-детекторе 2151 LKB (Швеция). Проверку чистоты АпоА_I осуществляли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия. Белок определяли по Лоури [17].

Выделение клеток печени. Клетки печени получали по методу P. Seglen [20] в нашей модификации, используя рециркуляционную перфузию органа 0,03%-м раствором коллагеназы. После диссоциации ткани гепатоциты отделяли от НП-клеток с помощью дифференциального центрифугирования. Подсчет клеток проводили в камере Горяева. Жизнеспособность их оценивали методом исключения трипанового синего, а чистоту клеточных фракций определяли с помощью световой и электронной микроскопии. Полученные клетки ресуспендировали в среде DMEM, pH = 7,4, содержащей 15 ммоль HEPES, 10% эмбриональной сыворотки крови и 50 мкг/мл гентамицина. Инкубацию проводили в CO₂-инкубаторе в течение 24 ч, используя 24-луночные планшеты «Linbro» (Германия), покрытые колла-

геном 1 типа. Конечная плотность гепатоцитов в первичной культуре составляла 700 клеток на 1 мм².

Измерение скорости биосинтеза ДНК и белка в культуре клеток. За 2 ч до окончания инкубации в лунки с клетками добавляли по 20 мкл Н₃-тимиди-наили С₁₄-лейцина из расчета $3,7 \cdot 10^4$ Бк/мл. Реакцию останавливали добавлением 0,2N раствора NaOH. Для измерения радиоактивности ДНК содержимое каждой лунки переносили на GF/C фильтры и последовательно промывали 10%-й трихлоруксусной кислотой (ТХУ) и 95%-м этанолом. Для измерения радиоактивности белка содержимое лунки переносили на фильтр FN-16, обработанный 0,1 моль раствором лейцина в 10%-м растворе ТХУ. Затем фильтры последовательно промывали раствором ТХУ и спиртоэфирной смесью. Радиоактивность образцов измерялась на жидкостном сцинтилляционном счетчике MARK-3 (США) и рассчитывалась в импульсах в минуту на лунку.

Получение РНК-полимеразы. Препарат РНК-полимеразы фага Т7 выделяли из клеток *E. coli*, содержащих клонированный ген РНК-полимеразы из бактериофага Т7. Чистота препарата составила не менее 90% по результатам SDS-ПА-АГ-электрофореза. Удельная активность фермента составляла 20 000 ед/ОЕ₂₆₀. За единицу активности РНК-полимеразы принимали количество фермента, катализирующее включение 1 ммоль нуклеозидтрифосфата в кислотонерастворимый продукт за 1 ч при температуре 37 °С в реакционной смеси 100 мкл следующего состава: 40 ммоль трис-НСI, pH = 7,5, 6 ммоль MgСb, 2 ммоль спермидин-НСI, 10 ммоль дитиотреитол, 1 ммоль нуклеозидтрифосфаты (каждый из 4), 1 мкг плазмиды, содержащий Т7-промотер.

Выбор сайта связывания комплекса «тетрагид-рокортизол (тГК) — АпоА_I» с ДНК. Компьютерный поиск по базам данных нуклеотидных последовательностей млекопитающих (Gen. Bank, DNA Library) показал, что в структуру многих генов входит последовательность типа CC(GCC)_n. В структуре гена аполипопротеина А_I она имеет вид CC(GCC)₃. Эта последователь-

ность, но с числом повторов 5, была выбрана для анализа на специфичность взаимодействия с комплексом «тГК — АпоА₁». Для сравнения был также взят фрагмент кДНК регуляторной области гена цитохрома P-450 и гомогенный олигонуклеотид (Т₁₉). Все последовательности имели вид:

- 1) 5'-CCGCCGCCGCCGCCGCC-3';
- 2) 5'-ATCTTTAACTGATGAATTCT-3';
- 3) 5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTT-3'.

Малоугловое рентгеновское рассеяние (МУРР). Для анализа эффектов взаимодействия эукариотической ДНК и синтетических олигонуклеотидов с комплексом «тГК — АпоА₁» использовали метод МУРР. Измерение малоугловых рентгенограмм проводили на дифрактометре фирмы Siemens (Германия). Длина волны рентгеновского излучения $\lambda = 0,154$ нм ($\text{CuK}\alpha$). Использовали гомогенные препараты АпоА₁, РНК-полимеразы, ДНК и олигонуклеотидов с исходными концентрациями соответственно 0,40; 4,16; 3,12 и 1,52 мг/мл. Малоугловые рентгенограммы получали в угловом диапазоне: $0,024 < h < 3,423$ нм⁻¹, где $h = 4\pi \sin(\theta)/\lambda$, 2θ — угол рассеивания. В рентгенограммы вносили поправки на фоновое рассеивание, коллимацию; проводили их сглаживание.

SI-нуклеазный анализ взаимодействия комплекса «тГК — АпоА₁» с ДНК. Комплекс «глюкокортикои-ды — АпоА₁» получали, выдерживая их смесь в молярном отношении 2 : 1 в калий-фосфатном буфере 0,05 моль, рН = 7,4 при комнатной температуре в течение 5 мин. Полученный комплекс добавляли к 500 нг нативной ДНК, растворенной в буфере для SI-нуклеазы в соотношении 5 моль белка на 1000 п.н. К полученному раствору добавляли SI-нуклеазу в концентрации 0,2 ед активности и инкубировали в течение 30 мин при температуре 30 °С. Электрофорез полученных фрагментов ДНК проводили в 0,3-, 0,5- и 1%-м агарозных гелях [2]. В качестве маркеров использовали ДНК фага λ и ее рестрикты. После электрофореза гель окрашивали в растворе бромистого этидия и фотографировали в ультрафиолете. Фото пленки сканировали на сканере фирмы «Кора» (Новосибирск).

Исследование опухолевых клеток. В качестве экспериментальной модели использовали культуру клеток асцитной гепатомы мышей линии HA-I, полученную В.И. Калединым (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск). Свежевыделенные клетки гепатомы ресуспендировали в среде RPMI-1640, содержащей 10 ммоль HEPES-буфера, 2 ммоль L-глутатиона и 50 мкг/мл гентамицина, наносили на 24-луночные планшеты «Linbro» (США). Инкубацию проводили в атмосфере CO₂ (5%) и воздуха (95%) при температуре 37 °С в течение 1 сут. Для получения культуры без макрофагов (прилипающих клеток) исходную культуру инкубировали 1 ч; после адгезии макрофагов содержимое лунки осторожно переносили в другой планшет и продолжали инкубировать в течение 1 сут. Плотность клеток в первом случае составляла $5 \cdot 10^3$ на 1 мм², во втором случае — $3,5 \cdot 10^3$ на 1 мм². За 2 ч до окончания инкубации в лунки добавляли по 20 мкл H₃-тимидина (для определения скорости синтеза ДНК) или C₁₄-лейцина (для определения скорости биосинтеза белка). Условия измерения радиоактивности такие же, как и для нормальных гепатоцитов.

Достоверность полученных результатов оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Впервые показано, что восстановленная форма кортизола — тетрагидрокортизол — является биологически активной формой гормона. Она образуется в клетках Купфера при участии 5 α - и 5 β -редуктаз и принимает участие в регуляции экспрессии генов. Данный эффект связан с усилением биосинтеза как ДНК, так и белка (табл. 1). Однако биологическая активность гормона проявляется только тогда, когда он образует комплекс с АпоА₁. Данный белок входит в структуру ЛПВП₃ и освобождается при дезинтеграции последних во вторичных лизосомах клеток Купфера под влиянием лизосомальных протеиназ. В данном случае АпоА₁ выполняет роль адресного переносчика тетрагидрокортизола в ядро для дальнейшего взаимодействия с депротеинизированными участками ДНК. Эта версия была проверена с помощью МУРР.

Таблица 1
Влияние комплекса «тетрагидрокортизол — АпоА1» на скорость биосинтеза ДНК и белка в первичной культуре гепатоцитов ($M \pm m$)

Условия инкубации	Скорость включения H_3 -тимидина в ДНК, имп./мин на лунку		Скорость включения S_{35} -лейцина в белок, имп./мин на лунку	
	Без АпоА1	С АпоА1	Без АпоА1	С АпоА1
Контроль	4459 $\pm$ 157	3320 $\pm$ 511	760,0 $\pm$ 4,7	386,0 $\pm$ 21,1
Тетрагидрокортизол	3393 $\pm$ 333*	4928 $\pm$ 115* ⁺	692,0 $\pm$ 4,7	1098,0 $\pm$ 107,4* ⁺

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем;

⁺ — по сравнению со скоростью без АпоА1.

Ранее метод МУРР с успехом применялся для получения информации о механизме молекулярных взаимодействий, для определения стехиометрии этого взаимодействия, констант равновесия макромолекулярных комплексов, структурных и весовых характеристик макромолекул и их агрегатов [21]. Анализ полученных с помощью МУРР данных показал, что препараты используемых в работе РНК-полимеразы, АпоА1 и нативной ДНК были достаточно монодисперсны. Структурные характеристики АпоА1 и нативной ДНК из печени крыс были определены ранее [8, 9]; Т7-специфическая РНК-полимераза содержала одну субъединицу с молекулярной массой 110 кДа [13].

Известно, что о целостности вторичной структуры ДНК можно судить по наличию дифракционного максимума в области углов $h \approx 2,66 \text{ нм}^{-1}$ на рентгенограмме МУРР, соответствующего диаметру двойной цепи ДНК (2,2 нм). Из рис. 1 видно, что при $h \approx 2,7 \text{ нм}^{-1}$ на рентгенограммах МУРР для препаратов нативной ДНК и для смесей ДНК с АпоА1 и РНК-полимеразой без тГК четко наблюдается дифракционный максимум, а в случае аналогичных смесей в присутствии тГК величина пика достоверно снижалась. Это свидетельствует о плавлении вторичной структуры ДНК в результате взаимодействия ее с комплексом «тГК — АпоА1».

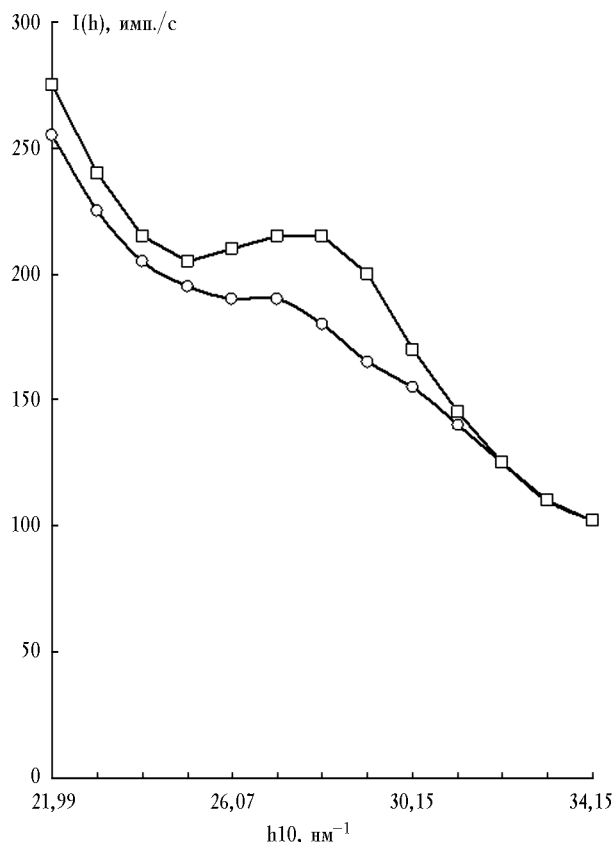


Рис. 1. Рентгенограммы МУРР смесей ДНК с АпоА1 и РНК-полимеразой без ТНС и в присутствии ТНС. Концентрации: ДНК — 0,043 мкмоль; АпоА1 — 1,22 мкмоль; ТНС — 2,55 мкмоль; РНК-поли-

мераза — 0,568 мкмоль

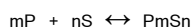
В полученных выше результатах оставалась неясной область взаимодействия комплекса «тГК — АпоА1» с ДНК. Поиск вероятных последовательностей по международным базам данных показал присутствие цис-элемента типа $(GCC)_n$ в структуре гена *ApoA1* человека. Аналогичная последовательность выявлена в регуляторных областях многих генов млекопитающих и человека. Дальнейшие исследования были проведены на трех синтетических олигонуклеотидах (см. выше). При используемой в работе точности измерений интенсивностей МУРР заметное взаимодействие АпоА1 отмечено только с олигонуклеотидом-1.

В отсутствие тГК взаимодействие олигонуклеотида-1 с АпоА1 существенно слабее. Характер изменения значений $A J(0)$ показал, что в сме-

сях происходит образование комплексов исходных макромолекул.

Для оценки максимальной стехиометрии комплекса, образующегося в результате взаимодействия олигонуклеотида (S) с АпоА₁ (P), была использована кооперативная равновесная схема, разработанная ранее [12].

K_{mn}



$$K_{mn} = [P]^m[S]^n/[P_mS_n]$$

$$R(m, n, K_{mn}) = 2/p \sum_i \Delta_{li}(0) - \Delta_{ji}(0) / \Delta_{li}(0) + \Delta_{ji}(0),$$

где K_{mn} — константа диссоциации комплекса P_mS_n ; $[P]$, $[S]$, $[P_mS_n]$ — равновесные концентрации белка, олигонуклеотида и комплекса соответственно; R — критерий оптимизации; $\Delta_{li}(0)$, $\Delta_{ji}(0)$ — экспериментальные и модельные значения разностных интенсивностей рассеивания под нулевым углом [22].

Минимальное значение критерия R соответствует стехиометрии образующегося комплекса 1 : 1 ($T = 1$, $p = 1$) при значении константы диссоциации $K_{mn} = 60,1$ мкмоль (касс = $1,66 \cdot 10^6$ моль⁻¹).

Таким образом, впервые описано специфическое взаимодействие АпоА₁ с олигонуклеотидом $cc(gcc)_5$ и определены структурные характеристики этого олигонуклеотида и их комплексов с АпоА₁ в присутствии тГк. При замене тГк на кортизол и при отсутствии тГк константа диссоциации увеличивалась в несколько раз. Связывание АпоА₁ с другими олигонуклеотидами оказалось достаточно слабым, т.е. подтверждается предположение, что комплексы «тГк — АпоА₁» при взаимодействии с ДНК связываются с участками цепи, имеющими структуру $(gcc)_n$, что и приводит к разрыву водородных связей между парами азотистых оснований ДНК. Локальная денатурация ДНК и расплетание двойной цепи являются необходимым условием для взаимодействия с РНК-полимеразой и усиления экспрессии генов.

О появлении одонитевых участков ДНК при взаимодействии ее с комплексом «тГк — АпоА₁» можно судить по взаимодействию с si -нуклеазой. Показано значительное увеличение числа si -нуклеазочувствительных участков в нативной

ДНК, полученной из печени крыс под влиянием данного комплекса. Комплекс АпоА₁ с невосстановленной формой гормона — кортизолом не увеличивал заметно количество si -нуклеазочувствительных участков. Добавление к ДНК АпоА₁ в отсутствие лиганда также не приводило к изменению распределения и количества одонитевых участков. Полученные результаты свидетельствуют о том, что si -нуклеазочувствительные участки, появляющиеся в ДНК под влиянием комплекса «тГк — АпоА₁», неравномерно распределены в структуре макромолекулы. Однако при определенном соотношении ДНК, комплекса «тГк — АпоА₁» и si -нуклеазы удается выявить определенную периодичность в распределении сайтов связывания комплекса с ДНК, т.е. один сайт приходится на 5,5 и 6 тыс. п.н. соответственно.

В связи с тем что связывание ДНК с комплексом «гормон — АпоА₁» ранее проводили в буфере с $pH = 7,5$ [5], а оптимум pH для si -нуклеазы составляет 5,0 [2], в данной работе исследования выполняли как в том, так и в другом буфере. Оказалось, что при замене буфера картина расщепления ДНК si -нуклеазой в присутствии комплекса не изменилась.

Ранее было показано, что комплекс «гормон — АпоА₁» активно формируется при $pH = 5-8$ [4]. В этом же интервале pH осуществляется его взаимодействие с ДНК, что указывает, вероятно, на очень малый вклад электростатических связей как в образование самого комплекса, так и в его взаимодействие с ДНК. По-видимому, определяющую роль здесь играют гидрофобные взаимодействия, не исключено также участие и водородных связей. Данный вывод позволяет предполагать, что связывание комплекса с ДНК осуществляется по малой бороздке.

Также были исследованы различные соотношения гормона и АпоА₁ в комплексе. Оказалось, что соотношение два гормона (тГк) на одну молекулу АпоА₁ является самым оптимальным для взаимодействия комплекса с ДНК.

Выявленные молекулярные механизмы усиления биосинтеза ДНК и белка в первичной культуре нормальных гепатоцитов под влиянием глюкокортикоидов и ЛПВП в дальнейшем

изучались на культуре опухолевых клеток. Исследования проводились на клетках мышинной гепатомы HA-1 [1]. Эта клеточная линия получена из печени мыши-самца линии A/He, которой вводился ортоаминоазотолуол после перевода ее в асцитную культуру (рис. 2).

Оказалось, что в культуре клеток гепатомы в отсутствие макрофагов совместное добавление кортизола и ЛПВП не оказывало влияния на биосинтез ДНК и белка. Добавление кортизола и ЛПВП к исходной культуре клеток гепатомы значительно усиливало синтез как ДНК, так и белка (табл. 2).

В свете изложенных данных это означает, что перитонеальные макрофаги, которые всегда присутствуют в асцитной опухоли мышей, активно захватывают

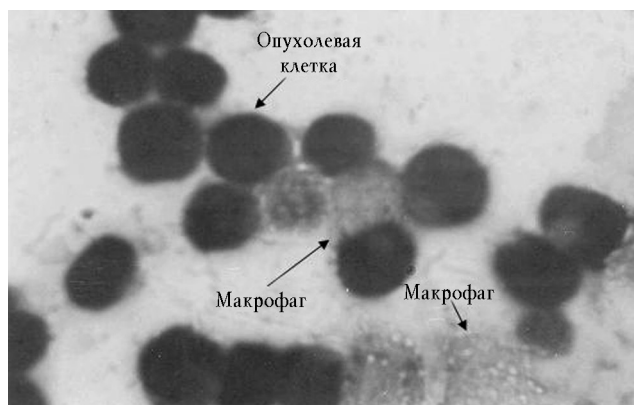


Рис. 2. Клетки асцитной гепатомы HA-1. Окраска по Романовскому—

Гимзе. Ув. 1800

Таблица 2

Влияние кортизола и ЛПВП на скорость биосинтеза ДНК и белка в культуре клеток асцитной гепатомы мышей линии HA-1 ($M \pm m$)

Условия инкубации	Скорость включения H_3 -тимидина в ДНК, имп./мин на 1 мг белка		Скорость включения S_{14} -лейцина в белок, имп./мин на 1 мг белка	
	С макрофагами	Без макрофагов	С макрофагами	Без макрофагов
Контроль	115,0 $\pm$ 8,0	81,0 $\pm$ 9,0	4408,0 $\pm$ 376,0	3164,0 $\pm$ 98,0
Кортизол и ЛПВП	153,0 $\pm$ 7,0*	77,0 $\pm$ 3,0	6610,0 $\pm$ 351,0*	3206,0 $\pm$ 107,4

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

кортизол и ЛПВП и формируют биологически активный комплекс «ТГК — АпоA1». Последний и

запускает механизм усиления биосинтеза белка и ДНК, описанный выше. Ранее было показано, что в сокультуре гепатоцитов и макрофагов добавление кортизола и ЛПВП не оказывало усиливающего влияния на синтез белка без стимуляции макрофагов липополисахаридами (ЛПС) [10]. В переживающих срезах печени одновременное добавление кортизола и ЛПВП значительно усиливало биосинтез белка без добавления ЛПС [6]. Взаимодействия макрофага и гепатоцита в условиях регенерации представлены на рис. 3.

В переживающих срезах макрофаги стимулируются продуктами клеточного повреждения, которые образуются в процессе приготовления срезов. Оказалось, что в культуре клеток гепатомы также не обязательно стимулировать макрофаги, чтобы повысить захват ими кортизола и ЛПВП для дальнейшего образования биологически активного комплекса «ТГК — АпоA1». В связи с этим можно полагать, что опухолевые клетки сами синтезируют какие-то продукты, способные стимулировать макрофаги. Данное обстоятельство и определяет программу деятельности макрофагов, направленную на повышение пролиферативной активности клеток гепатомы. В таком случае достаточно появиться хотя бы одной клетке в результате мутации, чтобы процесс клеточного роста при участии макрофагов стал необратимым.

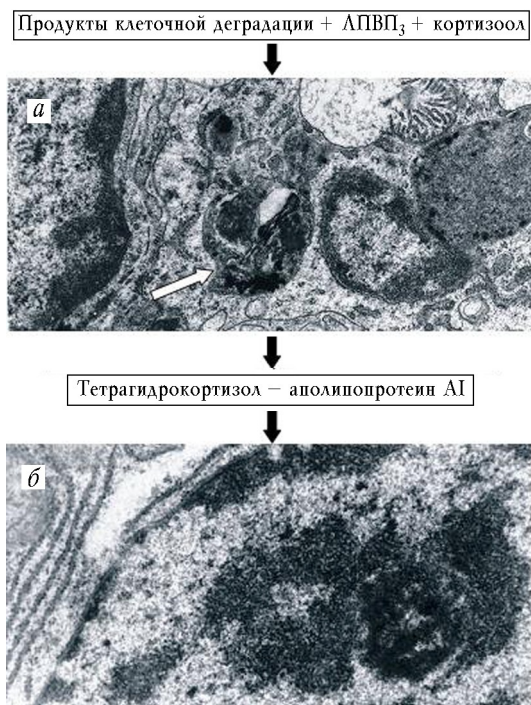


Рис. 3. Электронная микроскопия: а — клетка Купфера. Видна вторичная лизосома (белая стрелка), содержащая продукты клеточной деградации, ЛПВП₃, меченные коллоидным золотом и нагруженные кортизолом; б — гепатоцит, ядерный аппарат. Усиленное образование предшественников рибосом под влиянием комплекса «тетрагидрокортизол — АпоАІ»

Заключение

Таким образом, в настоящем исследовании вскрыты молекулярные механизмы, лежащие в основе клеточной пролиферации и опухолевого роста. Показано, что предпочтительным сайтом связывания комплекса «тГк — АпоАІ» с ДНК является последовательность типа $CC(GCC)_n$. Взаимодействие комплекса с ДНК в этих участках приводит к расплетанию двойной цепи, что и ведет к инициации взаимодействия ее с РНК-полимеразой. Впервые с помощью МУРР даны характеристики РНК-полимеразы и комплексов ее с нативной ДНК в присутствии АпоАІ и тГк. Установлено, что в образовании комплекса «тГк — АпоАІ» важную роль играют резидентные макрофаги. Последние участвуют в восстановлении стероидных гормонов с образованием тетрагидросоединений, в дезинтеграции ЛПВП с освобождением АпоАІ и образованием биологически активного комплекса «тГк — АпоАІ». Впер-

вые показано, что тетрагидрокортизол является биологически активной формой гормона, участвующей в усилении экспрессии генов в соматических клетках, при этом АпоАІ используется для направленного транспорта гормона в ядро. Данный механизм играет важную роль в пролиферации как нормальных, так и опухолевых клеток.

Литература

1. Каледин В.И., Серова И.А., Целлариус Ю.Г. и др. Исследования по индукции и метастазированию злокачественных опухолей у экспериментальных животных. Новосибирск, 1984. С. 98–124.
2. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М., 1984.
3. Панин Л.Е. // Бюл. СО РАМН. 1998. № 3. С. 11–23.
4. Панин Л.Е., Биушкина Н.Г., Поляков Л.М. БЭБиМ, 1992. Т. 112. С. 34–36.
5. Панин Л.Е., Гимаутдинова О.П., Поляков Л.М., Наякшина Т.Н. Молекулярная биология. 1998. Т. 112. С. 34–36.
6. Панин Л.Е., Маянская Н.Н. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении. Новосибирск, 1987. 198 С.
7. Панин Л.Е., Тузигов Ф.В., Тузикова Н.А. и др. // Биоорганическая химия. 2001. Т. 27. № 2. С. 114–119.
8. Панин Л.Е., Тузигов Ф.В., Тузикова Н.А. и др. // Биофизика. 2000. Т. 45. С. 611–619.
9. Панин Л.Е., Тузигов Ф.В., Тузикова Н.А. и др. // Молекулярная биология. 1999. Т. 33. С. 1–6.
10. Панин Л.Е., Усынин И.Ф., Харьковский А.В., Трубицына О.М. // Вопр. мед. химии. 1994. Т. 40. № 4. С. 6–8.
11. Саркисов Д.С. Очерки по структурным основам гомеостаза. М., 1977. 224 С.
12. Тузигов Ф.В., Тузикова Н.А., Вавилин В.И. и др. // Молекулярная биология. 1991. Т. 25. С. 740–751.
13. Уотсон Д. Молекулярная биология гена. М., 1978.
14. Favre G., Tazi K.A., Gaillard F. et al. // J. Lipid Res. 1993. V. 34. P. 1093–1096.
15. Giorno R., Ringel S.P. // Pathol. Immunopathol. Res. 1986. № 5. P. 491–499.
16. Hatch F.T., Lees R.S. // Advanc. Lipid Res. 1968. V. 6. P. 2–68.
17. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265–275.
18. Monge J.C., Hoeg J.M., Law S.W., Brewer H.B. // FEBS Letters. 1989. V. 243. № 2. P. 213–216.
19. Rothender M., Kostner G. // Int. J. Cancer. 1989. V. 43. P. 875–879.
20. Seglen P. Methods of Cell Biology. N.Y., 1968. V. 13. P. 80–83.
21. Tuzikov F.V., Zinoviev V.V., Malygin E.G. et al. // FEBS Letters. 1988. V. 232. P. 107–110.
22. Tuzikov F.V., Zinoviev V.V., Vavilin V.A., Malygin E.G. // Biopolymers. 1996. V. 38. P. 131–139.