

УДК 577.15+591.818+547.963+612.118

© 1991 г.

ЛЕКТИНЫ В ИССЛЕДОВАНИИ РЕЦЕПТОРОВ

Лахтин В. М., Ямсков И. А.

Рассмотрены вопросы очистки и характеристики около 270 случаев рецепторов (в том числе ферментов клеточной поверхности и органелл) — гликоконъюгатов (главным образом гликопротеинов) животных, растений и микроорганизмов с использованием различных лектинов (главным образом лектиновых сорбентов). Проведен анализ факторов лектиновой хроматографии рецепторов (выбор детергента, использование органических растворителей, элюция углеводами и т. д.). Приведены примеры процедур очистки рецепторов, в том числе применение спаренных колонок и комбинированной хроматографии на лектинах. Показана возможность лектинов разделять субпопуляции рецепторов. Приведены примеры применения лектинов в анализе олигосахаридной структуры рецепторов. Отмечены случаи взаимодействия рецепторов с эндогенными лектинами и рецепторных лектинов с эндогенными гликоконъюгатами. Показано, что лектины могут быть полезными в сочетании с гликозидами и антителами в исследовании рецепторов.

Библиография — 406 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1777
II. Взаимодействие иммобилизованных лектинов с рецепторами	1778
III. Исследование рецепторных гликанов с помощью лектиновых сорбентов . .	1802
IV. Взаимосвязь между рецепторами, эндогенными лектинами и ферментами	1804
V. Заключение	1806

I. ВВЕДЕНИЕ

В последние годы изучение рецепторов находится в центре внимания исследователей в связи с их участием в биоузнавании на различных уровнях организации всего живого [1—9]. Установлено, что ключевые (важные в метаболическом отношении) взаимодействия между рецепторами и внешними агентами (эндогенными и экзогенными, растворимыми и связанными с клеточной поверхностью или клеточными органеллами) идут во многих случаях по типу специфического связывания между лектинами (углеводсвязывающими белками) и гликоконъюгатами [10—22]. Поэтому вопросы очистки и характеристики рецепторов с помощью набора лектиновых сорбентов или меченых лектинов представляют интерес для биологов и химиков. С момента опубликования обзора Лотана и Николсона [23] по очистке мембранных гликопротеинов с помощью лектиновой хроматографии появилось большое число публикаций, значительно расширяющих наши представления о возможностях использования лектинов в изучении рецепторов и связанных с клеточными структурами ферментов (см. например, обзоры [21, 22, 24—27]).

Целью данного обзора является рассмотрение вопросов очистки и характеристики рецепторов различной природы с помощью лектинов, главным образом лектиновых сорбентов.

II. ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ЛЕКТИНОВ С РЕЦЕПТОРАМИ

В табл. 1 и 2 суммированы результаты использования лектиновой хроматографии для очистки рецепторных гликопротеинов, в том числе связанных с клеточными структурами ферментов (см. также обзоры [22–24, 26]). Из таблиц видно, что рецепторы обладают сродством к широкому ряду лектинов, причем наиболее часто используется лектин из зародышей пшеницы, что объясняется широким распространением у рецепторных гликопротеинов полиганглиозидных сиалированных гликанов, бисектированных остатков N-ацетил-D-глюкозамина, О-гликозидсвязанных остатков N-ацетил-D-глюкозамина, гибридных олигосахаридов и гликанов полилактозаминного типа (об исследовании структуры рецепторов с помощью лектинов смотрите ниже).

1. Результаты использования лектиновой хроматографии для очистки рецепторов

Из приведенных в таблицах данных видно, что использование лектина пшеницы позволяет очищать в 50–100 раз Са-каналы, опиоидные рецепторы и гликопротеины обонятельных нейронов [47, 61, 74, 90, 117, 193]. Конканавалин А (Кон А) высокоэффективен при очистке фосфолипазы A₁ (165 раз, на фоне активации фермента [269, 270], а лектин гороха — при очистке гликопротеинов фибробластов (58 раз, в варианте аффинной ВЭЖХ [187]). Относительно редко используемые в лектиновой хроматографии лектины также могут оказаться весьма полезными: рицин — в случае очистки индуцируемых вирусом Эпштейна-Барр гликопротеинов и рецептора холецистокинина (144 и 440 раз соответственно [98, 223], лектин-I улекса (ЛУЕ-I) — при очистке рецептора холецистокинина (300 раз) [99]), специфичный к α -маннозиду лектин из семян *Vicia bungei* — при очистке опиоидных рецепторов (200 раз [60]). В этих и других случаях лектиновая хроматография является наиболее эффективным этапом очистки рецепторов (см. табл. 1, 2).

В результате лектиновой хроматографии достигается стабилизация препаратов рецепторов, что важно для их хранения (например, в случае рецепторов дофамина [76]). По-видимому, это связано с удалением примесных гидролаз и оксидаз [92]. Иногда исследователи выявляют активацию рецепторов в элюатах после лектинового сорбента, как в случае рецепторов инсулина [91], фосфолипазы A₁ [269] или Ca²⁺-зависимой пептидазы [295]. Активация указанных выше гликоконъюгатов может происходить как за счет удаления (разделения в элюатах) ингибиторов (гликоконъюгатов и белков), так и за счет стабилизации рецепторов на фоне нестабильного контроля (до очистки). При специально подобранных условиях элюции достигается существенное возрастание выхода рецептора вплоть до 150% от исходной активности [269].

В процессе хроматографии на лектинах возможна прочная иммобилизация гликоконъюгатов (низкий выход при высоком проценте связывания) с одновременной их очисткой от примесей, как в случае α -адренергических и лактогенных рецепторов, эпитектин (Са-антитела), рецепторов тиреотропина и интерлейкина-4 и сульфотрансферазы [65, 108, 112, 163, 214, 256]. При этом, как и в других случаях олигомерных рецепторов, субъединицы с преимущественным сродством к данному лектину (гликозилированные субъединицы) первыми связываются с лектиновым сорбентом, обеспечивая последующую направленную сборку рецептора (присоединение, например, негликозилированных субъединиц), как в случае рецепторов α -латротоксина, фибронектина, инсулиноподобного гормона роста, цГМФ-канала, Na⁺, K⁺-АТФазы и антигенов трипаносом [43, 123, 134, 201, 235, 302, 303], а также рецепторных комплексов [51, 126, 202].

Таблица 1

Очистка рецепторов (Р) на иммобилизованных лектонах (ИЛ)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Рецепторы катионов, низкомолекулярных веществ, рецепторные комплексы из тканей и клеток животных		
Транспортер Na^+ /глюкозы кишki животного, 75 кД	Кон А (связ.)	[28]
Транспортер гексоз из овоцитов хомяка, дефектных по Lec-1, форма-40 кД форма-55 кД	ЛП (10–20% связ.), Кон А (80–90% связ.) ЛП (25–40 связ.) Кон А (60–75 связ.)	[29]
GABA-транспортер мозга быка, 80 кД	ЛП (связ.)	[30]
Транспортер серотонина хромаффинных гранул надпочечника быка, 80 кД, ДЭАЭ \rightarrow ГОА \rightarrow ФЦ \rightarrow ЛП	ЛП (связ.)	[31]
Транспортер <i>L</i> -Glu мозга крыс	ЛП (50%; 12 раз)	[32]
GABA-транспортер/транспортер <i>L</i> -Glu мозга крыс, ЛП \rightarrow ГОА \rightarrow ДЭАЭ	ЛП (20%; 6 раз) *	[33]
Чувствительный к квискалату Р для <i>L</i> -Glu из мышц лягушек, 74+65 кД Кон А \rightarrow Ультрагель	Кон А (57%; 178 раз) *	[33a]
ГП Na^+ -канала нейронов мозга саранчи/сакситоксиновые Р, 240–260 кД	ЛП (34%; 2,7 раза) Кон А (33%)	[34]
Na^+ -канал угря <i>Electrophorus electricus</i> , 285 кД	Лн слизня лучше ЛП (из 11 лектинов)	[35]
Na^+ -канал пресинаптических Мб мозга крыс	ЛП (80% связ.)	[36, 37]
ГП K^+ -канала мозга крыс/дендротоксин-связывающий Р, ДЭАЭ \rightarrow АХ \rightarrow ЛП	ЛП (44%; 6 раз)	[38]
$\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ -обменный ГП сарколеммы сердца собаки, 160 кД, ДЭАЭ \rightarrow ЛП	ЛП (50%; 1,7 раза)	[39]
$\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ -обменный ГП наружного сегмента глазных палочек быка, 215 кД ДЭАЭ \rightarrow ЛП	ЛП (20%; 1,7 раза) ЛК-2 (связ.)	[40, 41]
Ca^{2+} -связывающие ГП сарколеммы сердца быка	ЛП (>60%) **	[42]
ГП канала входа цГМФ фоторецепторов палочек глаза быка, 63+240 кД	Кон А (связ. 63 кД) ** из 5 Лн	[43]
Na^+/K^+ -антисортер ресниччатой каймы почек крыс	Связ. с 5 биотинил-Лн ***	[44]
Комплекс 1,4-дигидропиридинового Р и Ca^{2+} -канала из сердца цыплят, ДЭАЭ \rightarrow Гексиламин \rightarrow ЛП	ЛП (70%; 3 раза)	[45]
Дигидропиридиновый Р/Р блокаторов Ca^{2+} -канала скелетных мышц кролика, 142+56+30 кД, ЛП(1) \rightarrow ДЭАЭ(ВЭЖХ) \rightarrow ЛП(2)	ЛП(1) (70%; 24 раза) * ЛП(2) (66%; 1,7 раза)	[46]
Чувствительный к дигидропиридину Ca^{2+} -канал сердца цыплят, 140 кД, ДЭАЭ \rightarrow Кон А \rightarrow ЛП	Кон А \rightarrow ЛП (42%; 132 раза), в том числе ЛП (88%; 97 раз) *	[47]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Р дигидропиридин из скелетных мышц кролика, 53+160 кД, ЛП → ДЭАЭ → Дигидропиридин	ЛП (85%; 14 раз) *	[48, 49]
Комплекс Р дигидропиридин и Ca^{2+} -канала скелетных мышц кролика, 340 кД ЛП → ДЭАЭ	ЛП (38%; 39 раз) *	[50]
Комплекс Р дигидропиридин и дистрофина скелетных мышц кролика, 360 кД (36+43+52+61+94 кД) ЛП → ДЭАЭ	ЛП (связ. 100%), сродство к α_2 -СЕ Р дигидропиридина в случае Кон А и ЛП	[51, 51a]
Р блокаторов Ca^{2+} -канала скелетных мышц кролика, 56+150 кД	ЛП (связ.)	[52]
Комплекс Р дигидропиридин и Ca^{2+} -канала L-типа из надпочечника быка, 185–190 кД	ЛП (связ.)	[53]
α_2 -подобный компонент чувствительного к 1,4-дигидропиридину Ca^{2+} -канала сердечной мышцы цыплят, 139 кД	ЛП (удаление компонента) 197 кД)	[54]
Р инозитол-трифосфата микросом гладкой мышцы аорты быка, 224 кД Гепарин → ЛП	ЛП (46%; 2,4 раза)	[55]
Р инозитол-трифосфата из мозжечка крыс, 260 кД ДЭАЭ → Гепарин → Кон А → ГФ; Гепарин → Кон А → Mono Q (ВЭЖХ)	Кон А (60%; 5 раз)	[56–58]
Опиоидные Р мозга цыплят, крыс, быка, человека	ЛП (40–60%; 30 раз), лучший из 7 лектинов	[59]
Опиоидные Р мозга крыс, 45 кД	Лн <i>Vicia bungei Ohwi</i> (200 раз) лучше ЛП	[60]
Комплекс опиоидных Р и чувствительного к коклюшному токсину гуанинсвязывающего белка мозга крыс, 41+39 кД ЛП → Фенил	ЛП (20–50%; 100–40 раз)	[61]
Опиоидные Р гибридных клеток нейробластомы-gliомы NG 108–15, 58 кД	ЛП (связ.)	[62]
Опиоидные Р плаценты человека	ЛП (из 5 лектинов)	[63, 64]
α_1 -адренергические Р гладкомышечных клеток BC ₃ H ₁ мышей и DDT1 хомяков	ЛП (сродство Р клеток хомяка в 6 раз слабее, чем в случае мышей)	[65]
α_1 -адренергические Р мозга и печени крыс, Гепарин → АХ → ЛП	ЛП (45%; 8 раз; из мозга) (48%; 2,6 раза; из печени) связывание – 100%	[66]
α_1 -адренергические Р в комплексе с гуанидинсвязывающим белком Гепарин → ЛП	ЛП (68%; 5 раз) *, удаление негликозилированных гуанидинсвязывающих белков	[66a]
α_1 -адренергические Р мышечных клеток DDT1 и MF2, 80 кД, Антагонист → ЛП → ГФ (ВЭЖХ)	ЛП (70–90%; 10 раз; связывание >90%)	[67]
α_2 -адренергический Р тромбоцитов человека, 64 кД АХ → Гепарин → ЛП → АХ → Гепарин	ЛП (74%; 5 раз)	[68]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
β-адренергические Р лимфомных клеток S49 мышей	ЛП, Кон А (влияние свайсонина) связывание >75%, выход 50%	[69]
β ₁ -адренергический Р эритроцитов индюка	6 Лн (отличия от Р млекопитающих) **	[70]
β ₂ -адренергические Р эритроцитов и легких хомяка, 62 кД	ЛП, Кон А (тканеспецифичность) **	[71]
Р дофамина D1 мозга и паразитовидной железы быка, 64 кД	ЛП, Кон А (но не ЛС, ЛА) **	[72]
Р дофамина D2 хвостатых ядер мозга быка	ЛП (но не Кон А)	[73]
Р дофамина хвостатых ядер мозга быка, 95 кД, AX → ЛП	ЛП (52%; 49 раз)	[74]
Р дофамина D2 хвостатых ядер и глазных бугорков мозга быка	ЛП (связ. 68%; выход 100%), разделение форм Р **	[75]
Р дофамина D2 стриатума быка, ЛП → AX; AX → ГФ → ЛП	ЛП (80%; 10 раз), стабилизация Р	[76, 77]
Р кокаина (транспортер дофамина) синаптосом стриатума быка	Кон А (связ.)	[78]
Транспортер дофамина из хвостатых ядер и стриатума мозга крыс, СЕ 58 кД	ЛП (связ.) ** Кон А (не связ.)	[79]
Транспортер дофамина из стриатума мозга собаки	ЛП (95%; 10 раз)	[80]
Р гистамина H1 гладкомышечных дифференцированных клеток ВСЗН1 мышей, 68 кД	Кон А (30%; 25 раз) **	[81]
Р октопамина/Р нейрогормона/Р активатора аденилатциклазы из люминесцирующих органов светляков <i>Photinus Pyralis</i> , СЕ 75+79 кД	Средство к Кон А ** (блотинг) ***	[82]
Мускариновый Р ацетилхолина из предсердия свиньи	ЛП (55%; 20 раз)	[83]
Р ацетилхолина из коры головного мозга быка, 73 кД	ЛП (связ., 90%, выход до 65%) ** Кон А **	[84]
Р ацетилхолина мышечных волокон крыс	ЛП (связ.)	[85]
Р ацетилхолина коры головного мозга крыс	ЛП лучше Кон А **	[86, 87]
Р ацетилхолина электрического органа угря, α+β+γ+δ(СЕ)	Меченные *** Л-ФГА (связ. δ- и γ-СЕ) ЛП (связ. δ-СЕ) Кон А (связ. все СЕ)	[88]
Р рианодина из мозга и мышц кролика	ЛП (не связ.) Кон А (не связ.) ЛЧ (не связ.)	[51а, 88а]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Рецепторы пептидных и белковых гормонов, ростовых факторов из тканей и клеток животных		
Р инсулина из плаценты человека ЛП → ЛЧ → ЛК-1	ЛП (98%; 22 раза) ЛГ (45%; 14 раз) ЛЧ (30%; 15 раз) Кон А (20%; 5 раз) ЛК-1 (15%; 7 раз)	[89]
Р инсулина из плаценты человека ЛП → Инсулин; Кон А → Инсулин	ЛП (54%; 7,5 раз) ЛП (40%; 5 раз)	[90, 90a]
Р инсулина из лимфоцитов IM9 человека ЛП → ЛК-1 → ЛГ	ЛП (70%; 21 раз) ЛК-1 (50%; 50 раз) ЛК-2 (30%; 50 раз) ЛГ (25%; 26 раз) ЛЧ (20%; 15 раз) Кон А (10%; 5 раз)	[89]
Р инсулина из скелетных мышц крысы ЛП → Инсулин	ЛП (80%; 70 раз) ЛП (94–120%, 7 раз)	[90a] [91]
Р инсулина из мозга и печени крыс, СЕ 135+95 кД ДЭАЭ → Кон А → Инсулин → ЛП	Кон А (93%; 36 раз), ЛП (94%; 2,3 раза; удаление инсулиназы)	[92]
Р формилпептида из перитонеальных нейтрофилов кролика, 50–70 кД (fMet-Leu-Phe) → ЛП	АХ → ЛП (74%; 203 раза)	[93]
Р вазопрессина V1 печени крыс, 58–68 кД ГФ → ЛП → ГОА → ДЭАЭ	ЛП (84%; 6 раз)	[94]
Транспортер пептидов из ресниччатой каймы слизистой тонкого кишечника кролика 127 кД ЛП → ДЭАЭ	ЛП (связ.)	[95]
Вазоактивный Р пептида (Р нейротрансмиттерного гормона) кишечника из печени крыс, 80+56 кД	ЛП (связ. 50%) **, но не Кон А	[96]
Возоактивный Р кишечного гормонального пептида из легкого крыс, 58 кД	ЛП (связ.)	[97]
Р холецистокинина из поджелудочной железы крыс, 80–90 кД ЛК-2 → Аффигель	ЛК-2 (около 100%; 440 раз)	[98]
Р холецистокинина из поджелудочной железы крыс, 95 кД Тиосорбент → ЛУЕ-I → ГФ	ЛУЕ-I (47%; 300 раз) лучше чем ЛП	[99]
Р холецистокинина из поджелудочной железы крыс, 85–95 кД	ЛП (связ.) **	[100]
Р из клеток желчного канала печени, 110 кД	ЛП (связ.)	[101]
Р лютеинизирующего гормона и хорионгонадотропина из яичника крыс, 73 кД или 90–93 кД ЛП → Хорионгонадотропин	ЛП (70%; 18 раз) **	[102–104]
Р лютеинизирующего гормона и хорионгонадотропина из яичника свиньи Сефароза 6B → Кон А	Кон А (30–40%; 4–10 раз)	[105]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Р лютропина из яичника свиньи, 22+40+ +66 кД; Гормон → Кон А	Кон А (50–75% связ.)	[106]
Р фоллиотропина из семенников быка, 240 кД (СЕ-60 кД) ДЭАЭ → ЛП	ЛП (92%; 3,7 раза), два типа ГП	[107]
Р тиреотропина из щитовидной железы быка, 316+115+54 кД Тиреотропин → ЛГр	Тиреотропин → ЛГр (3%; 808 раз) ЛГр (связ. 84%) ЛП (связ. 70%) ЛК-1 (связ. 69%) Кон А (связ. 60%)	[108]
Р тиреотропина из щитовидной железы пациентов с болезнью Грэйва, 70+50+ +35 кД ЛП → Тиреотропин	ЛП (26%; 4,7 раза; связ. более 90%)	[109]
Р соматостатина из поджелудочной железы крыс, 400 кД (100+56+21 кД, СЕ)	ЛП (75%; 7 раз)	[110]
Р соматостатина из мозга крыс	ЛП (связ. 50%; выход 67% от связанной формы)	[111]
Лактогенный Р из печени мышей, СЕ 62+ +100 кД (в комплексе с гормоном роста человека – 20 кД)	Кон А (связ. 95%, выход 30%); ЛК-1 (связ. 81%, выход 69%); ЛЧ (связ. 52%, выход 38%); ЛП (связ. 27%)	[112]
Лактогенный Р из яичника крыс Кон А → Хорионгонадотропин	Кон А (выход 60%)	[113, 114]
Р освобождающего кортикотропин фактора переднего гипофиза и мозга крыс, СЕ 75 и 58 кД соответственно	ЛП (связ. 20%) ** Кон А (связ.)	[115]
Р β-трансформирующего фактора роста из тканей цыплят и человека, клеток ЗТЗ мышей	ЛП (связ.)	[116]
Р для тромбоцитарного фактора роста из матки свиньи ЛП → MonoQ → (АТ к фосфотирозину)	ЛП (99%; 90 раз) *	[117]
Р основного фактора роста фибробластов из мозга быка, 125–165 кД ДЭАЭ → MonoQ → ЛП → (Фактор роста)	ЛП (связ. 100%), для удаления гепарина	[118]
Р инсулиноподобного ростового фактора I из клеток феохромоцитомы PC12 и надпочечника быка	ЛП (Очистка 36-72 раза)	[119]
Р инсулиноподобного ростового фактора I из плаценты человека	ЛП (связ.)	[120]
Р для полученного из тромбоцитов фактора роста из мозга кошки, 145 кД	ЛП (связ.) **	[121]
Р гормона роста из культуральных лимфоцитов человека	ЛП лучше, чем Кон А. ЛЧ, ЛК-1, ЛК-2	[122]
Р инсулиноподобного ростового фактора II жировых клеток человека, 260 кД (СЕ 87+60 кД)	ЛП (связ.)	[123]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Р связывающего гепарин фактора роста из гепатомных клеток Нер G2 человека, 130 кД	ЛП (связ.) **	[124]
Р стимулирующего колонии макрофагов и гранулоцитов фактора из плаценты, нейтрофилов и лейкемических линий клеток человека, 84 кД	ЛП (связ.)	[124a]
Р α -интерферона из лимфобластоидных клеток <i>Namalva</i> человека ЛП → Интерферон	ЛП (47%; 13 раз) *	[125]
Р β -интерферона человека, 110 кД ЛП → АТ	ЛП (связ. 90%; выход 68%)	[126]
Р γ -интерферона фибробластов крайней плоти человека Интерферон → ЛК-1	ЛК-1 (100%; 2,6 раза)	[127]
Р γ -интерферона плаценты человека, 90 кД ЛП → Интерферон	ЛП (связ.) **	[128]
Прочие рецепторы и антигены животных		
Р комплемента CR1 из миелина периферических нервов человека, 190 кД	ЛЧ (связ.)	[129]
Р Fc-фрагментов иммуноглобулинов из лимфоцитов человека с хронической лейкемией ЛЧ → ГФ	ЛЧ (связ.)	[130]
Р α_2 -макроглобулина из плаценты человека, 420 кД ГФ → Макроглобулин → Mono Q → ЛП	ЛП (связ.)	[131]
Р лактотрансферрина мышей, 130 кД	Кон А, Л-ФГА (связ.) **	[132]
Р фибронектина из гепатоцитов и фибробластов крыс, 155+115 кД ЛП → (Гексапентид фибронектина)	ЛП (связ.)	[133]
β -СЕ Р фибронектина саркомы мышей, 135 кД ЛЧ → ЛП → АХ → ГОА	ЛП (не связ., очистка фильтрацией)	[134]
Р фибронектина/интегрин из паренхимных клеток печени крыс, СЕ 110 кД ЛП → Фибронектин	ЛП (связ.) **	[135]
Ассоциированный с интегринами антиген из плазматических мембран клеток плаценты человека, СЕ 50 кД ЛП → γ -Интерферон → B6H12 (АТ)	ЛП (связ.)	[136]
β_1 -СЕ интегрина (Р фибронектина из личинок амфибий <i>Pleurodeles walli</i> ГФ → Кон А	Кон А (связ.)	[137]
Р трансферрина из плазматомных клеток NS-1 мышей, СЕ 90–95 кД	4 Ли (связ. Гп) **	[138]
Р трансферрина из овидукта кур, 180 кД (СЕ 91 кД)	4 Ли (связ. Гп)	[139]
Р витронектина из меланомных клеток M21 человека	Кон А, ЛЧ (связ.)	[140]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Р витронектина/интегрин $\alpha v \beta_3$ /Р фибронектина из плаценты человека LM 609 (АТ) → ЛП	ЛП (связ.)	[141]
Интегрин $\alpha \beta_5$ (Р адгезии витронектина) из плаценты человека, LM6-9 → MN142 → → ЛП	ЛП (связ.)	[142]
Р фибриногена (ГП-IIb/IIIa-подобный Р) эндотелиальных линий клеток человека, 150+(110-125)+95 кД АХ → ЛП → (АТ к ГП-IIIa)	ЛП (связ. 100%)	[143]
Р ламинина (200/120 кД-интегрин) нейробластомных клеток B50 (интегрин $\alpha \beta_1$) ЛП → Ламинин	ЛП (связ.)	[144]
Р адгезии эндотелиальных клеток аорты плода коровы и пупочной вены человека (не член семейства кадгеринов), 130 кД ЛП → АТ	ЛП (связ.)	[145]
Р адгезии на невральных клетках из мышечных клеток C2	ЛА (связ.)	[146]
Р адгезии на субстраты из тератокарциномных клеток ОГТ6050 мышей, 125 кД	ЛК-1 (связ.)	[147]
ГП-Ib тромбоцитов человека/Р фактора Виллебранда, 165 кД (СЕ 143+22)	ЛП (удаление актина и ГП-IX)	[148]
ГП-Ib тромбоцитов человека/Р адгезии на субэндотелиальных сосудов ЛП → ДЭАЭ	ЛП (связ.)	[149]
ГП-IIb/IIIa тромбоцитов человека Кон А → Гепарин → ГФ → ЛП	Кон А (связ. ГП-IIb/IIIa + + тромbosпондин + фибриноген), ЛП (удаление фибриногена)	[150]
ГП-IV тромбоцитов человека ЛЧ → ЛП	ЛЧ (удаление ГП-IIb/IIIa связыванием), ЛП (связ. ГП-IV, Ib)	[151]
ГП-IV тромбоцитов человека (CD 36-подобный), 88 кД ЛП → ЛП → ГФ; ДЭАЭ → ЛП → ГФ	ЛП (связ.)	[152]
ГП-V тромбоцитов человека Superose 12 → Mono Q → ЛП	ЛП (66%; 7 раз) *	[153]
ГП-IX тромбоцитов человека, 17 кД ЛП → (А к ГП-Ib) → ГФ (ВЭЖХ)	ЛП (связ.)	[154]
Р тромбоксана А-2/простагландина Н-2 из тромбоцитов человека ГФ → ЛП → Красная агароза → ГФ (ВЭЖХ)	ГФ → ЛП (22%; 1620 раз) *	[155]
Гликокалицин тромбоцитов человека ЛП → Mono Q	ЛП, Кон А, ЛК-1 **, Э-ФГА	[156, 157]
Р лектина фасоли из лимфоцитов селезенки свиньи	ФГА (связ.)	[158]
Р лектина арахиса из незрелых (кортиковальных) тимоцитов мышей, 170-180 кД	ЛА (связ.)	[159]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
ГП Thy-1 (антиген) тимоцитов мышей Кон А → (АТ к Кон А) → ГФ	Кон А (83%; 19 раз)	[160]
Антиген Thy-1 тимоцитов мышей, менее 27 кД+28 кД	Ли дурмана (<27 кД: не связ. 50%, задерживается 25%; 28 кД: связ. и десорбируется 25%) **	[161]
Р интерлейкина-3 млекопитающего, 140 кД	ЛП (связ.)	[162]
Р интерлейкина-4 из Т-лимфоцитов линии MLA 144 гиббона, 130 кД КМ → ЛП → Интерлейкин-4	ЛП (35%; 4,5 раза), КМ (фильтрация) → ЛП (10–15 раз)	[163]
Антител CD w44 из Т-лимфоцитов пациентов с хронической лейкемией, 85 кД F10-44-2 (МоноАТ) → ДЭАЭ → ЛП → КМ → ГФ	ЛП (связ.)	[164]
Лейкосиалин (сиалофорин, CD 43) из лейкоцитов человека (клетки MOLT-4), 95 кД	ЛП и ЛК-1 (связ. 100%), Кон А и ЛЧ (частичное связ.); десорбция детергентом (кроме ЛП) **	[165]
Лейкосиалин промиелоцитов линии HL-60 человека ЛП → АТ	ЛП (связ.)	[166]
Лейкосиалин эритролейкемических лейкоцитов K562 человека, 105 кД	ЛП лучше других Ли	[167]
Лимфоцитарный антиген из оболочечника, 28 кД	ЛЧ (связ.) **	[168]
Содержащие фукозу ГП (Н-антаги) эритроцитов человека ДЭАЭ → (Ли алеурии)	Ли алеурии (связ.) **	[169, 170]
Содержащий А-антител ГП эритроцитов группы крови А(+) человека, 500 кД (СЕ 42–55 кД)	Ли улитки (связ.)	[171]
Содержание Cad-антител ГП эритроцитов Cad-группы крови человека	Ли долихоса лучше Ли улитки, ЛП, Э-ФГА, Ли маклюры	[172]
Гликофорин М эритроцитов St ^a -группы крови человека	ЛЧ (удаление гликофорина N)	[173]
Гликопротеиновые предшественники антигена группы крови N с активностью антигена Томсена-Фридленрайха из злокачественной карциномы яичника пациентов (Ли <i>Vicia unijuga</i>) → ЛА	Ли <i>Vicia unijuga</i> (связ.), ЛА (связ.)	[174]
Гликофорины A, B, N-эритроцитов Dantu-группы крови человека	ЛЧ (не связ. гликофорин N)	[175]
Гликофорины A, B, C, E эритроцитов человека ЛП(ВЭЖХ) → Cu ²⁺ -хелат	ЛП (разделение A+B+C и E – не связ.)	[176]
Гликофорин A типов MM- и NN-эритроцитов человека	ЛП (связ. 100% для MM и 70% для NN), ЛК-1 (связ. ацидогликофорин)	[177–179]
Р гонококков из эритроцитов человека (полоса-3), 186 кД (СЕ 93 кД)	Кон А (связ.)	[180]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
ГП теней адипоцитов большого сальника свиньи, 47+79 кД ЛГ → ДЭАЭ → ГФ	ЛГ (связ.)	[181]
Р липопротеина жирового тела насекомых, 120 кД ДЭАЭ → ГОА → Кон А → АХ	Кон А (связ.) *	[182]
Р цитолитической (противоопухолевой) активности перитонеальных макрофагов мышей, 153+140+90 кД	ЛП (связ.)	[183]
Р активации цитотоксической активности макрофагов мышей, 460 кД (110+170)	Лн личинок мух (связ.)	[184]
Р для микроба <i>Mycoplasma pneumoniae</i> из фибробластов MRC-5 легких человека	ЛП (связ.)	[185]
ГП альвеолярных клеток типа II легких кролика и крысы, 230 и 200 кД соответственно	Лн маклюры (связ.) **	[186]
ГП диплоидных фибробластов человека ЛГ (ВЭЖХ), Кон А (ВЭЖХ)	ЛГ (очистка 58 раз), Кон А (очистка 6 раз)	[187]
Индукционные альдостероном ГП из эпителиальных клеток мочевого пузыря жабы, 65+70 кД	ЛП (очистка 20 раз) ** Кон А (связ.)	[188]
Р эпидермального фактора клеток А-431, 170 кД	Кон А и ЛЧ (связ. ОС) **	[189]
Уникальный АГ почек при почечной болезни человека, 98+105 кД	Лн дурмана-пероксидаза (связ.) из 5 Лн ***	[190]
ГП-II из хромаффинных гранул надпочечника быка, СЕ 80–100 кД	ЛП (связ.)	[191]
Ассоциированный с лизосомными мембранами овоцитов китайского хомяка ГП-1, СЕ 135+115 кД	Лн сердца быка (связ.), Лн помидоров (связ.)	[192]
Трансмембранный ГП обонятельных нейронов лягушки, 95 кД	ЛП (50 раз)	[193]
Антиген 2B8 обонятельных нейронов крыс, 215 кД	ЛП, ЛК-1 (связ. ациалоГП)	[194]
ГП культуральных клеток олигодендроглии, 99+77 кД ИОХ → ЛП	ЛП лучше Кон А, ЛЧ (не связ. с ЛК-1, ЛЛ, ЛС, Лн долихоса)	[195]
ГП олигодендроглии мозга быка, 99+77 кД ИОХ → ЛП	ЛП (выход 70%)	[196]
ГП из миелина и олигодендроцитов мозга человека, 120 кД ЛА → ЛА	ЛА (связ.)	[197]
Антиген клеток Пуркинье мозжечка мышей, 400 кД ГФ → Кон А → ГФ	Кон А (связ.)	[198]
Связывающие гиалуроновую кислоту ГК мозга 8-недельных мышей (более 50% ГК – протеогликаны) ЛГ → ГФ → ДЭАЭ	ЛП (89–100%; 22 раза)	[199]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Р для α -латротоксина (нейротоксина) каракурта из мозга быка, 280–320 кД (200+160+79+43) ДЭАЭ → ЛП → АТ	ЛП (70%; 4 раза), связ. α -СЕ токсина (200+160)	[200, 201]
Комплекс α -токсина скорпиона с Na-каналом мозга крыс	ЛП (связ. β -СЕ Na-канала)	[202]
ГП жировых шариков молока коровы ГП-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	Кон А, ЛП ГП-1,2,6 связ.; ГП-3,4 задерживаются; ГП-7 не связ.	[203]
Р для комплекса эндогенный фактор-кобаламин из подвздошной кишки свиньи и человека, 75+65+43 кД	ЛП, ЛЧ и Кон А (связ. 45–79%); ЛП (связ. 75 кД); ЛЧ и Кон А (связ. 75+65+43 кД)	[204]
Антигены гистосовместимости H-2 ^b из опухолевых клеток RBL-5 мышей ГФ → ЛЧ → АТ	ЛЧ (80%; 8 раз)	[205]
Прочие антигены гистосовместимости класса II	5 Лн ***	[206–208]
ГП тонкого кишечника мышей и клеток тератокарциномы Лн долихоса → Лн долихоса	Лн долихоса	[209]
Связывающие коллаген ГП из клеток лимфоретикулярной опухоли MDAY-D2 мышей (Р коллагена типа II), 110+130 кД ЛП → Л-ФГА → ГФ	ЛП (связ.)	[210, 211]
ГП эмбриональных карциномных клеток РА-1 человека, 80–120 кД	Лн дурмана (связ.)	[212]
Р для фимбрий типа I (лектина) <i>E. coli</i> из эритроцитов морской свинки, 65 кД	Фимбрии типа I, Кон А (связ.) **	[213]
СиалоГП гепатомных клеток Морриса 7777	ЛП (связ.)	[178]
Эпитеткин (Са-антиген) карциномных клеток глотки человека, 1–1,5 млн. Д (390+350 кД) АТ → ЛП	ЛП (необратимое связывание)	[214]
Пренеопластический антиген при канцерогенезе печени из микросом злокачественных узлов печени крыс, 145 кД (2 СЕ) ГФ → Кон А	Кон А (73%; 6 раз) *	[215]
ГП клеток SK-Mel-37 злокачественной меланомы человека, 110 кД Кон А → ЛП	Кон А → ЛП (связ.)	[216]
ГП гепатомных клеток крысы, 130 кД Кон А → ГФ → (АТ к щелочной фосфатазе)	Кон А (связ.)	[217]
ГП печени крыс и клеток гепатомы Морриса 7777, 60+80+100 кД Кон А (ВЭЖХ), Кон А	Кон А (ВЭЖХ) (связ.)	[218]

Таблица 1 (продолжение)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Ангиогенин из клеток 256 крысиной карциномы Уокера, 57 кД КМ → ЛП → Фенил; Кон А	ЛП (удаление 98% примесного белка)	[219]
ГП эмбриональных карциномных клеток РА-1 человека, 80–120 кД	Лн дурмана (связ.)	[166]
ГП полипотентных эмбриональных карциномных клеток НМ-1, более 90 кД	Лн фитолакки (связ. 48%), Лн дурмана и Лн лотуса (17% связ.), ЛКК (не связ.)	[220]
Комплекс дистрофина из дистрофических скелетных мышц кролика, 156+50+43+ +35 кД	ЛП (удаление миозина и АТФазы)	[51, 221]
Ассоциированный с герпес-симплекс-вирусом опухолевый антиген из почечной карциномы человека, 70 кД ГФ → ДЭАЭ → ГФ → Кон А	Кон А (связ.)	[222]
ГП инфицированных герпес-симплекс-вирусом типа I клеток ВНК-21	Кон А (связ.)	[203]
Индуцированный вирусом Эпштейна-Барр мажорный ГП-320 кД ДЭАЭ → ЛК-2	ЛК-2 (100%; 144 раза)	[223]
Антигены гистосовместимости HLA-DR, МВ из трансформированных вирусов Эпштейна-Барр В-лимфобластоидных клеток человека	ЛК-2 (связ.)	[224]
Р для мислиз-вируса из клеток <i>Vero</i>	ЛЧ (связ.), ЛГ (связ.)	[225]
Р для минорной группы риновирусов из клеток <i>HeLa</i> человека, 450 кД ЛЧ → ГФ → ИОХ	ЛЧ (выход 100%); ЛК-2 (выход 100%); Кон А (выход 20%)	[226]
Транскрипт ГП пор ядерной Мб в клетках обезьяны COS-1, 62кД	сукц. ЛП (связ.) **	[227]
Гликоконъюгаты возбудителей заболеваний человека и животных		
Рекомбинантный ГП-160 вируса иммунодефицита человека типа I из инфицированных вирусом осповакцины клеток линии <i>Vero</i> ЛЧ → (АТ к ГП-41) → Mono Q → ЛЧ	ЛЧ (связ.)	[228]
ГП палочек прионов из мозга хомяков с вирусоподобной инфекцией – болезнью типа скрапье, 26+28 кД	ЛП, ЛК-1 (связ. асияло ГП) ** из 6 лектинов	[229]
Антиген возбудителя пневмонии – бактерий <i>Pneumocystis carinii</i> из инфицированных легких африканского хорька, 66–110 кД Superose-12 → КонА	Кон А лучше ЛП (ЛС и Лн аспарарагуса не связ.).	[230]
Бактериальные антигены (вакцины) рода <i>Bordetella</i>	Лн (связ.)	[231]
ГП оболочки спор бактерий <i>Bacillus sphaericus</i> 1593 (токсин для личинок комаров <i>Culex pipiens</i>)	Кон А (связ.)	[232]
ГП плазматических Мб микроорганизмов <i>Spiroplasma citri</i> , 84 кД	Кон А (связ.)	[233]

Таблица 1 (окончание)

Рецепторы, источники, схемы очистки (сорбенты)	Результат использования ИЛ (выход, %; очистка, во сколько раз; примечание)	Ссылки
Антигены промастиготов 14 штаммов рода <i>Leishmania</i> , 14–86 кД	Потенциальные лектиновые сорбенты (14 Лн) ***	[234]
Антигены поверхности простейших <i>Trypanosoma brucei brucei</i> варианта AnTat 1.1, 60+94 кД Кон А → оФВЭЖХ	Кон А (разделение 94 и 60 кД)	[235]
Антигены эпимастиготов простейших <i>Trypanosoma cruzi</i> (72 кД) и особей мета-циклической стадии (90+85+55 кД) ЦС → ДЭАЭ → ЛП → Кон А → ГФ (72 кД) ЦС → ДЭАЭ → ЛП → ГОА → Кон А (55 кД)	ЛП (различное средство у всех антигенов)	[236]
ГП-85 инфекционной трипомастиготной формы <i>Trypanosoma cruzi</i> , включающего сиаловую кислоту, остатки фукозы и α-1,3-галактозы	ЛП → ЛП **	[237]
Протективный АГ кольчатого клеща (вакцина), 86 кД ЛП → Кон А → ЭФ → ЛП → ГФ(ВЭЖХ)	ЛП и Кон А (связ.)	[238]
Филарияльные поверхностные антигены взрослых нематод-паразитов <i>Brugia malayi</i> , 29+(17–200) кД	Кон А, ЛП, ЛС, Лн лотуса	[239]
Антигены наружных покровов взрослых особей <i>Schistosoma mansoni</i> , 23–300 кД, 24 кД	Кон А и ЛЧ ** (из 7 лектинов)	[240–242]
ГП пистозомул <i>Schistosoma mansoni</i> из инфицированных мышей, 170 кД	ЛА (связ.)	[243]
Антигены вирулентности 3-х стадий нематод-паразитов <i>Trichinella spiralis</i>	ЛЧ (связ.)	[244]

Гликоконъюгаты микроскопических грибов

Радгезии клеток слизевика <i>Dictyostelium discoideum</i> на поздней стадии развития, 95+(40–50) кД	ЛП (связ.)	[245]
Специфичный для стадии «ножки» ГП-34 слизевика <i>Dictyostelium discoideum</i> NC4 (отсутствует у спор)	ЛП (связ.)	[246]
Антигены мицелиальных грибов <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Mucor pusillus</i> , <i>Petriellidium boydii</i> , <i>Trichophyton rubrum</i>	Кон А (связ.)	[247]

* Лектиновая хроматография как наиболее эффективный этап очистки;

** исследование рецепторов в сочетании с их обработкой эндо- и экзогликозидазами;

*** средство к меченным лектиналам.

Принятые сокращения:

Asn – аспарагин
 АТ – антитела; моноАТ – моноклональные АТ
 АТФ – аденоцитрифосфат
 АХ – аффинная хроматография
 БСА – бычий сывороточный альбумин
 оФВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография (обращеннофазная)

ЦГМФ – гуанозинмонофосфат (циклический)
 ГОА – гидроксиапатит
 ГП – гликопротеин (ы)
 Гп – гликопептиды
 ГФ – гель-фильтрация
 DDC – додецилсульфат

ДЭАЭ – диэтиламиноэтил
 ИОХ – ионообменная хроматография
 КМ – карбоксиметил
 Кон А – конканавалин А
 ЛА – лектин арахиса
 ЛГ – лектин гороха
 ЛГр – лектин гриффонии
 ЛК-1, ЛК-2 – лектины клещевины
 ЛКК – лектин клубней картофеля
 Ли – лектин (ы)
 сукц.ЛП – лектин пшеницы (сукцинили-
 рованный)
 ЛС – лектин сои

ЛУЕ-І – лектин-І улекса европейского
 ЛЧ – лектин чечевицы
 ОС – олигосахариды
 связ. – связывание
 СЕ – субъединицы
 Л-ФГА, Э-ФГА – лектин фасоли (лейко-
 и эритро-формы)
 ФЦ – фосфоцеллюлоза
 ЦС – цибакрон синий
 ЭФ – электрофорез
 Использовали воменклатуру рецепторов
 (1991 год): Trends in Pharmacological
 Sciences. 1991. Supplement. 35 р.

Возможна также очистка рецепторов или разделение их субпопуляций за счет задержки профилей элюции гликопротеинов после лектинового сорбента без применения десорбирующих углеводов (т. е. за счет слабых аффинных взаимодействий с лектином) [161, 203, 284]. Разделение за счет задержки элюции описано и для смесей гликопептидов в случае использования иммобилизованных лектинов фасоли или клещевины, что подтверждает влияние гликанов на характер элюции.

Наиболее простые процедуры очистки рецепторов включают фильтрацию через один лектиновый сорбент (отсутствие связывания) и связывание с другим лектиновым сорбентом (концентрирование рецепторов), например по схемам: лектин пшеницы (ЛП^-) \rightarrow Кон А $^+$ или Кон А $^-$ \rightarrow ЛП $^+$, как в случае антигенов трипаносом или АТФазы почек крыс [236, 301]. Используются также другие схемы очистки: лектин чечевицы (ЛЧ^+) \rightarrow \rightarrow ЛП $^+$ (рецептор фибронектина [134]), ЛЧ $^+$ \rightarrow Кон А $^+$ (предшественник протромбина [317]), ЛП $^+$ \rightarrow ЛЧ $^+$ \rightarrow лектин-1 клещевины (ЛК-1^+) (рецепторы инсулина [89]), ЛП $^+$ \rightarrow лейкоагглютинин фасоли (Л-ФГА $^+$) [210, 211]. Комбинация Кон А $^+$ \rightarrow ЛП $^+$ применяется в случае меланомных антигенов, дипептидазы IV и Mg $^{2+}$ -АТФазы [216, 290, 291, 305], а ЛП $^+$ \rightarrow \rightarrow Кон А $^+$ – в случае протективных антигенов членистоногих [238]. Указанные выше примеры комбинированной хроматографии на лектинах позволяют разделить множественные формы (субпопуляции) рецепторов, а также повышать общий выход любого рецептора, гетерогенного по углеводной части. Примером существенного повышения выхода может служить очистка дипептидил-дипептидазы IV с помощью аффинной ВЭЖХ на спаренных колонках с иммобилизованными Кон А и ЛП [291]. В ряде случаев применяется рехроматография антигенов и рецепторов на иммобилизованных ЛЧ [228], ЛП [46, 69], лектине долихоса [209] или лектине арахиса [197].

Как видно из табл. 1 и 2, в большинстве случаев максимальная степень очистки рецепторов при использовании лектина определенного типа достигается в вариантах схем на первых этапах очистки сразу после солюбилизации рецепторов детергентом. Однако при этом следует помнить, что хроматография грубых препаратов может приводить к необратимому загрязнению лектинового сорбента и снижению его аффинной емкости [125, 150, 291]. Кроме того, уже на примере гликопротеинов тромбоцитов можно ожидать преимущественное связывание с ЛП на первом этапе очистки одних рецепторов за счет других.

Лектиновую хроматографию рецепторов часто используют в сочетании с другими аффинными сорбентами. Так, спаренные колонки с иммобилизованным тиреотропином и лектином-І гриффонии позволяют очищать рецептор тиреотропина в 808 раз [108]. После (Кон А)-сорбента иммобилизованные гепарин и ЛП удобны для удаления тромbosпондина и фибриногена из препарата гликопротеинов II b –II a тромбоцитов [150]. После иммобилизованного фактора роста фибробластов (элюция рецепторов ге-

Таблица 2

Очистка связанных с поверхностью клеток и органелл ферментов (рецепторов) с помощью иммобилизованных лектинов

Ферменты, источники, схемы очистки	Результат использования ИЛ (выход, %, очистка, раз; примечание)	Ссылки
Оксидоредуктазы		
L-Тгр-оксидаза проростков полевой капусты (пероксидазошодная)	Кон A (83%, 4 раза)	[248]
Рибонуклеотид-редуктаза печени крыс, СЕ 89 кД	Кон A (связ.)	[249]
Пероксидаза из плаценты человека	Кон A (90%; 20 раз); удаление эозинофильной пероксидазы, мислопероксидазы, катализы и цитохрома Р-450	[250]
Дофамин-β-гидроксилаза, ассоциированная с β-адренергическим Р, из мозгового вещества надпочечника быка Кон A → ДЭАЭ → ГФ(ВЭЖХ)	Кон A (66%; 120 раз) *	[251]
Дофамин β-гидроксилаза из надпочечника крыс, 300 кД (СЕ 75 кД) Кон A → ГФ(ВЭЖХ) → ИОХ(ВЭЖХ)	Кон A (удаление хромогранинов)	[252]
Тирозиназа из меланомы хомяка ДЭАЭ → ГФ → Кон A	Кон A (80%; 7 раз) *	[253]
Трансферазы		
N-Ацетилглюкозаминид - β - 1,4-галактозилтрансфераза эмбриональных карциномных клеток F9 мышей ИОХ → ЛК-1 → Ацетилглюкозамин → α-Лактальбумин	ЛК-1 (не связ.)	[254]
Галактозилтрансфераза аппарата Гольджи почекущихся дрожжей <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , 61 кД ДЭАЭ(ВЭЖХ) → УДФ-гексаноламин → → Кон A → Mono Q	Кон A (73%; 2 раза) ЛГр-І (связ.)	[255]
Туг-протеин-сульфотрансфераза аппарата Гольджи клеток надпочечника быка, 50–54 кД	ЛП (связ. 37%) **	[256]
N-гепарансульфат-сульфотрансфераза печени крыс, 97 кД ДЭАЭ → Гепарин → АДФ → ЛП	ЛП (44%; 3 раза)	[257]
Стабилизируемая фосфатидилхолином олигосахарилтрансфераза микросом щитовидной железы телят	Кон A (связ.)	[258]
Туг-киназа мозга кошек (Р стимулирующего колонии фактора типа I или полученного из тромбоцитов фактора роста), 145 кД	ЛП (связ.) **	[121, 259]
Туг-киназа Р инсулина мозга и печени крыс	ЛП (связ.)	[260, 261]
Протеинкиназа/Р интерлейкина-1 из мезенгиальных клеток почек крыс в культуре (СЕ 48 кД)	ЛП (связ.)	[262]

Таблица 2 (продолжение)

Ферменты, источники, схемы очистки	Результат использования ИЛ (выход, %, очистка, раз; примечание)	Ссылки
Фосфоламбан-киназа саркоплазматического ретикулума клеток сердца млекопитающего, СЕ 56+53 кД	сродство к Кон А	[263]
Специфичная к Arg АТФ-рибозилтрансфераза микросом скелетных мышц животного, СЕ 39 кД ДЭАЭ → Кон А → ГФ(ВЭЖХ)	Кон А (88%; 50 раз) * ЛП (не связ.)	[264]
Поли А-полимераза оболочки ядер клеток печени крыс, 64 кД	Кон А (5 раз) **	[265]
Эстеразы		
Пара-нитрофенил-ацетатэстераза типа А из микросом печени крыс, 61 кД Кон А → ГФ → ДЭАЭ → ГОА	Кон А (80%; 3 раза)	[266]
Карбоксиэстераза Е1 из микросом печени крыс, 175 кД (СЕ – 59 кД)	Кон А (связ.) **	[267]
Ассоциированная с ацетилхолинэстеразой пептидаза электрического угря и базаль-ных ганглиев мозга овец АХ → ГФ → Кон А	Кон А (связ.)	[259]
Щелочная фосфатаза интегумента муhi, 180 кД Кон А → ГФ → ГФ	Кон А (связ.)	[268]
Фосфолипаза А-1 лизосом печени крыс Кон А → Хроматоф. → ГФ; (Оранже-вая + Красная агароза) → Кон А → Фенил	Кон А (156%; 165 раз) *	[269, 270]
Кислая фосфатаза промастиготов мексиканских и бразильских лейшманий (ингибируемая цитратом) ГФ → ДЭАЭ → Кон А	Кон А (72%; 14 раз) *	[271]
3'-Нуклеотидаза/нуклеаза промастиготов <i>Leishmania donovani</i> , 43 кД	Содержит Asn-ОС, доступные для ЛИ **	[272]
5'-Нуклеотидаза сердца крыс, 74 кД КМ → Кон А → ДЭАЭ → АДФ	Кон А (123%; 13 раз)	[273]
5'-Нуклеотидаза почек крыс, 69 кД Кон А → АДФ	Кон А (94%; 17 раз)	[274]
5'-Нуклеотидаза щитовидной железы быка, 150 кД (2 СЕ) ЛЧ → АМФ	ЛЧ (81%; 10 раз) *	[275]
РНКаза клеточной стенки гриба <i>Aspergillus oryzae</i> , сходная с РНКазой Т-2-L по углеводному составу	Возможное сродство к Кон А	[276, 277]
Сфингомиелиназа лизосом плаценты человека, 123 кД (СЕ 62 кД) Кон А → Сфингозилфосфорилхолин → → Гексил → ИОХ (ВЭЖХ)	Кон А (100%; 21 раз)	[278]
Нуклеотид-пирофосфатаза плаценты человека ЦС → АМФ → ЛП → АДФ → ГФ → ДЭАЭ	ЛП (96%; 2 раза)	[279]
Нуклеозид-дифосфатаза типа В из мозга крыс, 75 кД (тиамин-пирофосфатаза, ассоциирована с 1D4) ДЭАЭ → Кон А → ГФ → ЦС → Cu(+2) хе-лат → ГФ	Кон А (48%; 6 раз) *	[280]

Таблица 2 (продолжение)

Ферменты, источники, схемы очистки	Результат использования ИЛ (выход, %, очистка, раз; примечание)	Ссылки
Гликозидазы		
α -Глюкозидаза лизосом плаценты человека, 110 кД Кон А → ГФ	Кон А (99%; 12 раз)	[281]
Глюкозидаза II процессинга ГП из молочной железы коровы, 290 кД Кон А → ГОА → ДЭАЭ	Кон А (79%; 8 раз)	[282]
Глюкозидаза II процессинга ГП из простокров фасоли и клеточной культуры сои, 220 кД (2 СЕ) ДЭАЭ → ГОА → Кон А → ГФ	Кон А (73%; 10 раз)	[283]
α -1,2-Маннозидаза процессинга ГП из микроресничек крольчих печени, 52 кД ДЭАЭ → Кон А → ГФ → ЦС → ГФ	Кон А (77%; 27 раз) *	[284]
β -Фруктофуранозидаза клеточной стенки редиса (сходная с цитоплазматической)	4 Лн	[285]
Трегалаза американского таракана, 110 кД Кон А → ГФ	Кон А (48%; 32 раза)	[286]
Трегалаза реснитчатой каймы коры почек кролика Фенил; Кон А	Кон А (связ. 20%)	[287]
Комплекс сахарааза-изомальтаза биопсической пробы тонкого кишечника человека, 210+212+245 (СЕ 145+130 кД)	ЛЧ (все формы связ.), Лн улитки (связ. 212 и 245 кД)	[288]
N-Ацетилглюказаминидаза сперматозоидов оболочечника <i>Phallusia mammillata</i> , 158 кД (2 СЕ) ДЭАЭ → Фенил → Кон А → ЭФ	Кон А (69%; 2,5 раза)	[289]
Протеазы		
Дипептидил-пептидаза IV печени крыс Кон А → ЛП → Arg; Кон А(ВЭЖХ) → ЛП(ВЭЖХ)	Кон А → ЛП (74%; 46 раз), Кон А (84%; 32 раза)	[290, 291]
Карбоксипептидаза N плаценты человека, 280 кД ГОА → ЛЧ → Гистаргин	ЛЧ (27%; 2,5 раза)	[292]
Карбоксипептидаза M плаценты человека, 62 кД	Кон А (связ.)	[293]
Аминопептидаза N из кишечника кролика	ЛП (связ.)	[95]
Аминопептидаза N слизистой кишечника свиньи, 130 кД-СЕ (Стилбен-дисульфонат) → Кон А	Кон А (37% выход, удаление СЕ 90 кД); **, средство к ЛК-1, ЛП, Лн помидоров	[294]
Зависимая от Ca^{2+} пептидаза, участвующая в действии феромона спаривания дрожжей <i>Rhodosporidium toruloides</i> (клетки типа «а») ДЭАЭ → Кон А	Кон А (107%; 3,3 раза)	[295]
Протеиназа поверхности промастиготов разных видов лейшманий, 63 кД-СЕ	Кон А и ЛЧ (связ.)	[296]
Специфичная к Arg трипсиноподобная протеиназа/эстераза из Р инсулина печени крыс	Кон А (связ.)	[297]

Таблица 2 (продолжение)

Ферменты, источники, схемы очистки	Результат использования ИЛ (выход, %, очистка, раз; примечание)	Ссылки
Цистеиновая протеиназа/нейтральная жевательная липаза из клеток злокачественной меланомы LOX человека, СЕ 170 кД Сефакрил → ЛП	ЛП (очистка; 10 раз; удаление металлопротеиназы с СЕ 50 кД)	[298]
Прочие гидролазы		
Липоамидаза мозга свиньи, 140 кД КМ → ДЭАЭ → ГФ → ЛП	ЛП (очистка 10 раз; удаляет 13% гексоз с вероятным сродством к Ли)	[299]
Ампциллин-ацилаза бактерий <i>Pseudomonas melanogenum</i> , 146 кД (2 СЕ)	ЛЧ (связ.)	[300]
NAD-гликогидролаза щитовидной железы быка (вероятный Р тиреотропина) ГФ → ЛЧ	ЛП (не связ.)	[301]
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза микросом коры почек крыс, 95+54 кД Кон А → ЛП	Кон А (не связ.), ЛП (связ. β-СЕ), 54 кД	[302, 303]
β-СЕ, Na ⁺ , K ⁺ -АТФазы мозга крыс (молекула адгезии на глиальных клетках мозга) и кишечника свиньи, 60–80 кД	ЛП и ЛК-1 **, лучше Кон А	[303–305]
Mg ⁺ -АТФаза скелетных мышц кролика, 107 кД Кон А → ЛП → ИОХ(ВЭЖХ)	Кон А, ЛП, ЛЧ (связ.)	[51, 306]
АТФаза почек собак и клеток К562 человека (гликопротеин-«Р»), 170 кД	ЛП, Кон А и ЛК-1 (связ.), ЛА (не связ.)	[307–309]
АТФаза «Р»-типа (образующая фосфоинтремедиат) из холинергических синапсов клеток электрического органа <i>Torpedo californica</i> , 110+104+98+60 кД ГОА → ЛП → ГФ(ВЭЖХ)	ЛП (71%; 2 раза)	[309а]
ГТФаза обонятельных нейронов крыс, 55 кД	Кон А-ФИТЦ (связ.) ***	[310]
Лиазы		
Карбоновая ангидраза слюнной железы овца, 540 кД (СЕ 45 кД) Сульфонамид → ЛП → ГФ	ЛП и Кон А (связ.) **	[311]
Каталитический компонент чувствительной к гормону аденилатциклазы мозга быка, 120 кД	ЛП (30%; 2 раза)	[312]
Чувствительный к кальмодулину каталитический компонент аденилатциклазной системы коры головного мозга быка, 155 кД Кальмодулин → ЛП	ЛП (52%; 12 раз)	[313]
Рецепторная атриальная натриуретическая циклаза (гуанилатциклаза) гломерулёзных клеток надпочечника быка ГТФ → ЛП	ЛП (55%; 1,3 раза)	[314]
Связанная с частицами высокоактивная гуанилатциклаза легкого крыс Кон А → ГТФ	Кон А (25%; 3–6 раз)	[315]

Таблица 2 (окончание)

Ферменты, источники, схемы очистки	Результат использования ИЛ (выход, %, очистка, раз; примечание)	Ссылки
Фосфорилированная форма гуанилаткиназы спермы морских ежей, 160 кД ГТФ → ДЭАЭ → Кон А	Кон А (5 раз)	[316]
Зависящая от витамина К карбоксилаза микросом печени крыс	Кон А (связ. 80%) ЛЧ (связ. 70%)	[317]

* Лектиновая хроматография — наиболее эффективный этап очистки фермента,
** исследование фермента в сочетании с его обработкой эндо- и экзогликозидазами;
*** средство к неиммобилизованным лектина.

Принятые сокращения (см. также табл. 1):

АДФ — аденоzinидофосфат
АМФ — аденоzinмонофосфат
АТФ — аденоzinтрифосфат
ГТФ — гуанинтрифосфат

ЛГр-І — лектин-І гриффонии
РНК — рибонуклеиновая кислота
УДФ — уридинидофосфат
ФИТЦ — флуоресцентиоизоцианат

Ферменты указаны в соответствии с Международной Классификацией (Enzyme Nomenclature. Recommendations of the

Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry. Orlando: Acad. Press, 1984. 646 p.)

парином) удобен иммобилизованный ЛП для удаления гепарина из препарата рецепторов [118]. После хроматографии антигена Thy-1 тимоцитов на (Кон А)-сорбенте используют иммобилизованные антитела к Кон А для удаления частично вымываемых с сорбента дезоксихолатом молекул лектина [160]. В случае очистки галактозилтрансферазы карциномных клеток фильтрат после (ЛК-1)-сорбента поступает на иммобилизованный N-ацетил-D-глюкозаминил [254].

Тандемную хроматографию применяют и в других сочетаниях лектинового сорбента с нелектиновыми сорбентами. Так, спаренные колонки с иммобилизованными Кон А и фенилаланином эффективны при очистке фосфолипазы A₁ [270], с аффигелем S-145 и иммобилизованным ЛП — в случае рецептора тромбоксана A₂ [155]. Технологически проста и процедура фильтрации частично очищенных рецепторов через карбоксиметилсорбент до или после иммобилизованного ЛП в случаях рецептора интерлейкина-4 и гликоопротеина CD w 44 [163, 164]. Возможности tandemной хроматографии с использованием лектинового сорбента хорошо иллюстрируются на примере рецептора тромбоксана, который очищается на спаренных колонках сразу в 1620 раз, причем непосредственно из грубого солюбилизированного белкового экстракта [155]. Кроме того, такого рода парные комбинации лектинового и нелектинового сорбентов способствуют возрастанию выхода рецепторов [155].

Перспективно использование иммобилизованных Кон А, ЛГ, ЛП и ЛК-1 в вариантах аффинной ВЭЖХ при очистке мембранных гликопротеинов [176, 187, 218, 291].

2. Солюбилизация рецепторов и особенностей лектиновой хроматографии рецепторов

При проведении лектиновой хроматографии важными являются многие факторы: выбор способа солюбилизации для повышения растворимости рецепторов, состав буферов (типы детергентов, органические растворители, типы буферов, значения pH, ионная сила, присутствие катионов металлов или ЭДТА, необходимость восстановителей дисульфидных групп в белках, ингибиторов протеиназ, фосфолипидов и т. д.); способы напе-

сения, промывания и элюции, режим времени и температуры. Для каждого случая очистки рецепторов необходим подбор оптимального режима лектиновой хроматографии в зависимости от выбранного лектинового сорбента (типа лектина, матрикса, способа иммобилизации лектина, емкости сорбента по конъюгированному лектину или связыванию модельных гликоконьюгатов, условий регенерации и хранения для повторного использования). Сама же процедура хроматографии на лектиновом сорбенте в подобранных условиях является простой операцией. Сложность работы с лектиновым сорбентом, по-видимому, определяется присутствием в этих белках не только углеводсвязывающих участков, но и участков гидрофобного связывания, связывания катионов двухвалентных металлов и наличием других доменов.

Пожалуй наиболее сложным фактором является выбор способа солюбилизации рецепторов (типа детергента или солюбилизации обработкой гидролазами).

Наиболее часто используют 0,5–1,0% тритон X-100 (TX-100) для солюбилизации и лектиновой хроматографии рецепторов. Применяют и TX-114, например в случае гликопротеинов тромбоцитов и почек [149, 152, 190]. Иногда для солюбилизации вместе с TX используют и углеводы [202]. Поскольку высокие концентрации TX-100 вызывают десорбцию (вымывание) лектина с сорбента [218], лектиновую хроматографию рецепторов проводят при более низких концентрациях детергента по сравнению с условиями начальной солюбилизации в грубых экстрактах в случаях иммобилизованных Кон А [218, 255, 259, 286], ЛП [97, 119, 125, 202, 279] или лектина долихоса [209]. При очистке обонятельных рецепторов были эффективны крайне низкие концентрации TX-100, а именно 0,01–0,02% [107, 309]. Отсутствие TX-100 не дает возможности элюировать рецепторы даже высокой концентрацией углевода (0,5–1,0 M) в случае (Кон А)-сорбента [182, 215, 259]. Как правило, одновременно с подбором концентраций детергента важно следить за ионной силой буфера, которую обычно повышают в процессе лектиновой хроматографии с 0,1–0,2 M до 0,4–0,5 и даже 1 M NaCl или KCl, как в случае рецепторов нейротоксина или дофамина быка [75, 200]. Хроматографию рецепторов на ЛП-сорбенте проводят, как правило, в присутствии 5–10 mM Mg²⁺ [77, 97, 107, 119, 125, 279] и/или 1–2 mM Ca²⁺ [45, 46, 50, 52, 131, 133, 142–145, 200]. Катионы Ca²⁺ используют и при хроматографии рецепторов на ФГА-и (ЛК-2)-сорбентах, а в случае Кон А-, ЛЧ- и (лектин гороха)-сорбентов применяют 0,5–1,0 mM хлорид марганца, кальция и магния одновременно.

Используют также различные сочетания TX-100 и Na-дезоксихолата [34, 210, 211, 239, 289], хотя в некоторых случаях отмечены преимущества использования неионных детергентов (TX-100 и CHAPS) по сравнению с холатом, например при солюбилизации транспортера серотонина, Na-канала и некоторых др. [23, 31, 36]. Холат (0,5–1,5%) применяют при солюбилизации Cad-антитела эритроцитов, эстеразы печени, антигенов нематод-паразитов и вируса СПИД, 5'-нуклеотидазы и рецепторов макрофагов [172, 184, 239, 266, 275]. В процессе лектиновой хроматографии концентрации холата могут варьировать в зависимости от типа исследуемых рецепторов: 0,2–0,3% в случае рецепторов дофамина [73–75], 0,4–0,5% в случае опухолевых гликопротеинов [210, 211, 216] и белков Т-лимфоцитов [160, 164] и тромбоцитов [154], 0,6% в случае гликопротеинов щитовидной железы [275, 289], 0,05% в случае L-Glu-рецептора [33a].

Широко применяется для солюбилизации рецепторов 0,5–2%-ный 3-[3-(холамидопропил)диметиламмоний]-1-пропансульфонат (CHAPS) [57, 77, 94, 111, 112, 248, 265]. По-видимому, перспективно использовать фракционирование рецепторов с помощью детергентов. Так, в случае ре-

цепторов вазопрессина примеси удаляются предварительной обработкой 0,5%-ным CHAPS, а сами рецепторы солюбилизируются с высоким выходом при последующей обработке экстракта посредством 2%-ного CHAPS [94]. При солюбилизации Са-связывающих сарколеммных гликопroteинов и рецепторов освобождающего кортикотропин фактора применяют 6–8 мМ CHAPS [42, 115]. В процессе хроматографии на ЛП-, Кон А- или (ЛК-2)-сорбенте концентрации CHAPS варьируют следующим образом: 20 мМ в случае транспортера глутамата [33]; 0,1–0,8% в случае других транспортных гликопroteинов [28, 41, 52]; 1% в случае рецепторов инозитолтрифосфата, бактериального антигена инфицированных клеток легких хорька и карбоксипептидазы М [55, 230, 293].

Широкое применение для солюбилизации рецепторов нашел еще один неионный детергент – Nonidet P-40 (NP-40) при концентрациях 0,5–2% [72, 129, 143, 159, 161, 212, 224, 283, 295, 303]. В процессе хроматографии на лектинах используют более низкие концентрации NP-40: 0,1–0,2% в случае ЛП- и (Кон А)-сорбентов [72, 318]; 0,4–0,5% в случае иммобилизованных Кон А [258], ЛЧ [168], ЛП [100, 145], ЛА [159] и лектина дурмана [212]. На стадии элюции рецепторов углеводом концентрацию NP-40 снижают с 0,4 до 0,07% [258]. При этом необходимость использования 0,4%-ного NP-40 в случае олигосахаридтрансферазы обусловлена тем, что связанные с аспарагином гликаны этого гликопroteина обращены внутрь мембранных везикул и не реагируют с лектином без предварительной обработки относительно высокой концентрацией детергента [258].

Дигитонин (1–2%) также применяют для солюбилизации рецепторов: [45–47, 50, 51, 53, 54, 59, 61, 64–66, 68, 76, 79, 80, 93, 98]. При этом иногда целесообразна смена типов детергента. Так, после солюбилизации рецепторных комплексов 1%-ным дигитонином (например, Са-каналов) компоненты комплексов могут быть успешно разделены с использованием 1%-ного TX-100 [54, 84]. Дигитонин (0,1%) используется при хроматографии опиоидных рецепторов [59, 61, 64], рецепторов дофамина и холецистокинина [76, 79, 80, 98], α_1 -адренергических рецепторов [65, 66], рецепторов дигидропиридинов и Са-каналов [45–47, 49–51, 53]. При этом хроматографию обычно проводят на ЛП-сорбенте, хотя есть данные и для иммобилизованных ЛК-2 [98], ЛЧ и Кон А [59, 64, 98, 305].

Для солюбилизации рецепторов используют также α -октил- β -D-глюкопиранозид (0,05–0,2 М) [128, 131, 135, 137, 141, 144, 226]. Октилглюкозид (40–50 мМ) включают в стадию очистки гель-фильтрацией, как в случае β_1 -интегрина и сфингомиелиназы [137, 278]. В процессе хроматографии гликопroteинов альвеол легких животного используют 2 мМ октилглюкозид в случае иммобилизованного лектина маклюры [186]. Солюбилизованную в NP-40 пептидазу дрожжей хроматографируют на (Кон А)-сорбенте в присутствии 0,3 мМ октилглюкозида [295].

Для солюбилизации рецепторов используют также 2%-ный додецилсульфат натрия (ДДС) в случае антигена слизевика [246], катионный детергент DTAB в случае H^+ , K^+ -АТФазы [303] и 8 М мочевину в случае бактериального антигена инфицированных клеток хорька [230]. Твин-20 или твин-40, ренекс-30 или бридже применяют в случае рецепторов лимфоцитов [130, 160, 164], люброл-RX в случае аденилатциклазы и гуанилатциклазы [312, 313, 315, 316], лизолецитин в сочетании с другими детергентами в случае Mg^{2+} -АТФазы [305]. Смену бриджа (0,5%) на холат (0,5%) или цвиттергент (1%) применяют при очистке антигенов на ЛП-сорбенте [164, 238]. Также используют эмульгэн-109Р (1%) в случае хроматографии фукозилированных белков эритроцитов на иммобилизованном лектине алеурии [169], цвиттергент (0,5%) вместе с TX-100 (0,5%) в случае хроматографии антигена клеток Пуркинье на (Кон А)-сорбенте [198], твин-60 (0,1%) – при очистке аденилатциклазы [312,

313] и люброл (0,1–1%) — при очистке гуанилатклазы [315, 316] на иммобилизованных ЛП и Кон А соответственно.

Иногда для солюбилизации используют 1%-ный $C_{12}E_8$ [n -додецилолекта(этиленгликоль) моноэфир] [307, 309а], а для лектиновой хроматографии — 0,1%-ный $C_{12}E_8$ [294].

Традиционно применяют ДДС в процессе лектиновой хроматографии: 0,01%-ный на стадии элюции N-ацетил-D-глюкозамином в случае ЛП-сорбента [40, 302]; 0,1–0,5%-ный в случае (Кон А)-сорбента [203, 235, 318] или ЛП-сорбента [246]; 1%-ный — для неспецифической элюции рецепторов, особенно в случае иммобилизованных ЛС, ЛК-1, Кон А и ЛЧ [165, 195, 318]. Использование такого рода неспецифической элюции, возможно, будет полезным для регенерации лектиновых сорбентов. Следует однако иметь в виду, что ДДС способен выпадать в осадок в присутствии катионов металлов [203], а также вымывать лектины с сорбента и снижать емкость сорбента, как в случае иммобилизованного Кон А [235]. Кроме того, некоторые белки способны образовывать комплексы (например, димеры) даже в присутствии ДДС, как в случае опиоидных рецепторов [62].

Многостадийный процесс хроматографии рецепторов на лектиновом сорбенте (нанесение, различные варианты промывания сорбента, элюция рецепторов) характеризуется не только снижением концентраций детергента или варьированием комбинаций разных детергентов, но и возможным отсутствием детергента на самой последней стадии — элюции рецепторов углеводом. Это видно в случае очистки гликопротеина-Ib тромбоцитов [148], антигена CD 43 лимфоцитов [165], рецепторов дофамина [77], сарколеммных рецепторов [42], галактозилтрансферазы дрожжей [255], рецепторов инсулина [92] и гликопротеинов надпочечника [191] с использованием иммобилизованного ЛП. Сам же детергент (ДДС) даже в высоких концентрациях был не эффективен по сравнению с N-ацетил-D-глюкозамином для элюции очищаемых рецепторов на ЛП-сорбенте [165]. В случае (Кон А)-сорбента десорбция рецепторов углеводом без детергента (TX-100) не происходит (см. выше).

Проводят также обработку экстрактов или очищенных мембранных гликопротеинов хлороформ-метанольной смесью для солюбилизации фосфолипидсодержащих гликопротеинов (например, лигатина) или для удаления липидных примесей [171, 237, 319]. Обработка органическими растворителями, по-видимому, важна и в случае регенерации лектиновых сорбентов, используемых на первых этапах очистки рецепторов в связи с загрязнением сорбентов гликолипидами [291].

Помимо перечисленных выше способов солюбилизации, несомненный интерес представляют данные о солюбилизации рецепторов гидролазами, поскольку часто полученные растворимые рецепторы уже не требуют присутствия детергентов в элюентах при лектиновой хроматографии. Фосфолипазу С используют для солюбилизации гепатомных гликопротеинов [217], трипсин — в случае лизосомных ферментов [280], трипсин в сочетании с TX-114 — в случае антигена CD 36 [152], Ca^{2+} - и тиолзависимую протеиназу — в случае гликопротеина-Ib тромбоцитов [148], папаин — для обработки солюбилизованных твином и ренексом Fc-рецепторов лимфоцитов, очищенных на ЛЧ-сорбенте [130], лизоцим — для обработки ассоциированной с хитином высокомолекулярной формы щелочной фосфатазы интегумента муhi, очищенной на (Кон А)-сорбенте [268]. Трипсин был также полезен для разделения субъединиц сахарааза-изомальтазного комплекса из мембран кишечника человека [287].

В процессе хроматографии рецепторов на иммобилизованных лектинах вместе с детергентами используют органические растворители, что положительно сказывается на стабилизации рецепторов, а также на снижении гидрофобных взаимодействий между рецепторами и лектином. Этилен-

гликоль применяют при хроматографии на (Кон А)-сорбенте: 1 М – в случае очистки антигена Thy-1 [160], 20%-ный – в случае фосфолипазы А₂ [269], 10%-ный (вместе с 25%-ным глицерином) – в случае гуанилатдегидрогеназы [316]. При этом увеличение используемой концентрации этиленгликоля может компенсироваться снижением элюирующей рецепторы концентрации углевода [160], что указывает на возможность использования углевода и для снижения гидрофобного связывания рецепторов с лектином. Хроматографию на иммобилизованном ЛУЕ-І проводят в присутствии глицерина (5%), а при использовании ЛП-сорбента концентрации глицерина варьируют: 10% [38, 50, 52, 111, 117, 163] ([310] – для (Кон А)-сорбента), 20% [155, 246, 257] ([258] – для (Кон А)-сорбента) или 30% [107].

При очистке рецептора инозитолтрифосфата крыс и антигенов трипаносом на (Кон А)-сорбенте используют 1 мМ β-меркаптоэтанол [235, 303], а при выделении гликозилированных субъединиц АТФазы на ЛП-сорбенте – 10 мМ β-меркаптоэтанол в сочетании с 2%-ным детергентом [56]. По-видимому, могут применяться и другие восстановители дисульфидных связей в белковых комплексах.

Важными являются вопросы элюции рецепторов, связавшихся с лектиновыми сорбентами, с помощью углеводов. Обычно используют избыточные концентрации углевода (до 0,5 М, реже 1 М моносахарида): α-метил-D-маннопиранозид и α-метил-D-глюкопиранозид в случае Кон А, ЛЧ- и ЛГ-сорбентов, N-ацетил-D-глюказамин в случае иммобилизованных ЛП и лектина дурмана, лактозу или D-галактозу в случае иммобилизованных ЛК-1, ЛК-2, ЛА и ЛС; N-ацетил-D-галактозамин в случае ЛС; L-фукозу в случае иммобилизованных ЛУЕ-І и лектина алеурии. Иногда применяют ступенчатую элюцию возрастающими концентрациями углевода или линейный градиент углевода, например при очистке мембрanoсвязанной оксидазы [248] и рецепторов гистамина [81] на (Кон А)-сорбенте или мембрanoсвязанной липоамидазы [296], рецепторов дигидропиридина и транспортера дофамина [49, 80] на ЛП-сорбенте. Это позволяет, во-первых, удалять примесные гликопroteины с более низким сродством к лектину, во-вторых, разделять близкие по физико-химическим свойствам субпопуляции рецепторов, в-третьих, снимать с сорбента прочно связанные гликопroteины с целью регенерации иммобилизованного лектина, в-четвертых, количественно оценивать прочность связи очищаемых рецепторов с лектином, чтобы в дальнейшем не применять избыточные концентрации углевода для десорбции. Показано, что липоамидаза элюируется при 60 мМ N-ацетил-D-глюказамине [296], транспортер дофамина – при 125 мМ N-ацетил-D-глюказамине [80], рецепторы гистамина – при 80 мМ α-метилманнозиде [81], а Тгр-оксидаза разделяется на формы, элюирующиеся при 10, 20 и 50 мМ α-метилглюказозиде соответственно [248]. Перед элюцией рецепторов специфическим для лектина углеводом полезно промывание лектинового сорбента либо более низкими концентрациями того же углевода (вариант ступенчатой элюции углеводом) как в случае ЛЧ- и (Кон А)-сорбентов [134, 293, 294], либо не специфическим для лектина углеводом с относительно высокой концентрацией (0,5 М) как в случаях ЛП- и (лектин-І гриффонии)-сорбентов [108, 183, 227]. При работе с иммобилизованным лектином фасоли элюцию рецепторов лимфоцитов проводят без применения углевода (моносахариды не подходят для этого специфичного к олигосахаридам лектина) путем подкисления элюента до pH 3 [158], как и в случае элюции ядерных гликопroteинов эукариотов при хроматографии на ЛП-сорбенте [227].

При работе с иммобилизованным ЛП используют вместо N-ацетил-D-глюказамина значительно более эффективные десорбирующие углеводы: хитотетраозу [192], 3–10 мМ хитотриозу [100, 110–112, 163] или 15 мМ

хитобиозу (включающую 10 мас.% примесной хитотриозы), как в случае иммобилизованного лектина дурмана [161]. Не исключено, что примеси хитобиозы и хитотриозы в коммерческих препаратах N-ацетил-D-глюкозамина вносят существенный вклад в специфическую десорбцию указанных выше рецепторов.

Отличительной чертой лектиновой хроматографии гликоконъюгатов является обеспечение относительно длительного контакта иммобилизованного лектина с раствором гликоконъюгата (при нанесении) и с раствором десорбирующего углевода (при элюции гликоконъюгатов и регенерации сорбента). Время контакта зависит от температуры. Для полноты связывания рецепторов с ЛП-сорбентом инкубацию смеси проводят 16–70 ч при 4°C [93, 107, 154, 155, 239] или 1,5–3 ч [53, 110, 111] в условиях суспенсирования сорбента [53, 107, 110, 154, 239] или рециклического нанесения рецепторов на сорбент в варианте колоночной хроматографии [79, 91, 92, 111, 155]. Элюцию рецепторов углеводом в случае ЛП-сорбента проводят в течение ночи [93] или 1,5–3 ч при 4°C [53, 75], 15–20 мин при комнатной температуре [194, 342] или посредством двукратной обработки углеводом по 30 мин и дольше [92, 107, 163]. В случае иммобилизованных лектинов дурмана, чечевицы, сои и лотуса также применяют длительный контакт рецепторов с сорбентом [134, 212, 239]. При работе с (Кон А)-сорбентом нанесение рецепторов проводят в течение 12–21 ч при 4°C [239, 316] или 4 ч при комнатной температуре [265], а десорбцию углеводом — порциями после периодической инкубации в течение нескольких часов [47, 92, 269] и повышая температуру до 37°C с целью снижения гидрофобного связывания рецепторов с лектином [25, 280].

Важным фактором лектиновой хроматографии является аффинная или сорбционная емкость лектинового сорбента, определяемая либо по связыванию модельных стандартных гликопротеинов, либо по количеству иммобилизованного в 1 мл геля лектина (фирмы-производители лектиновых сорбентов обычно указывают емкость по количеству лектина в 1 мл геля). Поскольку представленные в табл. 1 и 2 данные включают в подавляющем большинстве иммобилизованные на агарозе лектины, ниже будут рассмотрены данные по емкости агарозных сорбентов. Наиболее часто используются коммерческие препараты ЛП-агарозы (сефарозы, аффигеля) с емкостями по лектину: 5 или 1–2 мг/мл геля (Pharmacia, Швеция, [65, 214]), 6–10 мг/мл (E.-Y.Lab., США [36]), сорбент производства фирмы Miles-Yeda (Израиль, [320]), 1 мг/мл (Bio-Rad, США, [124]) и др. В некоторых случаях исследователи сами синтезировали сорбенты: ЛП-сефарозу 4B (6–20 мг/мл, [35, 48, 117]), ЛП-аффигель-10 (5–10 мг/мл [83, 196]), ЛП-реактигель-6Х (5 мг/мл [109]). Сравнение синтезированных авторами ЛП-сефарозных сорбентов с варьирующими емкостями по лектину в интервале 0,08–10 мг/мл показало, что одни гликопротеины (например, гликофорин А) хорошо связываются в случае низкой емкости сорбента (0,08 мг/мл), а для других гликопротеинов (например, фетуина, овомукоида и α_1 -гликопротеина или орозумукоида) необходимы емкости более 3 мг лектина в 1 мл геля [176]. С помощью очистки в одну стадию на ЛП-сефарозе (0,08 мг/мл геля) авторам удалось получить из грубых экстрактов гликофориновые рецепторы эритроцитов и рецепторы из гепатомных клеток с хорошим выходом и высокой степенью чистоты [176]. В случае очистки рецепторов инсулина показано, что максимальный выход рецепторов удается достичь при использовании ЛП-сорбента фирмы Miles-Yeda по сравнению с аналогичными сорбентами других фирм [320]. В целом же, при очистке рецепторов наиболее часто используют ЛП-агарозу с емкостями не менее 4 мг/мл геля. В ряду исключений можно назвать сиалогликопротеины гепатомных кле-

ток [124, 176] и α_1 -адренергические рецепторы [320]. Замечено, что при нанесении избыточного количества рецепторов на ЛП-сорбент возрастают его сорбционные свойства и соответственно возрастает выход связавшегося материала [83], хотя тот же эффект, возможно, мог бы наблюдаваться и при увеличении времени контакта рецепторов с лектином (см. выше).

В большинстве приведенных в табл. 1 и 2 случаях ЛП-сорбенты используются как сиалоспецифичные реагенты для связывания сиалогликопротеинов, что легко может быть проверено в сочетании с обработкой рецепторов сиалидазой [256]. В качестве специфичного к N-ацетил-D-глюкозамину сорбента используется иммобилизованный сукцинилированный ЛП, например при очистке белка ядерных пор клеток млекопитающих [227] или немодифицированный ЛП-сорбент в случае очистки гликопротеинов олигодендроглии [196]. Для очистки содержащих полисиаловые кислоты [(NeuAc- α -2,8)-_n] гликопротеинов (например, Na-канала угря) вместо ЛП-сорбента лучше использовать иммобилизованный лектин слизня [35]. Среди прочих широко используемых лектин-агарозных сорбентов можно назвать сорбенты с относительно высокими емкостями: 10–16 мг/мл геля в случае Кон А (Pharmacia, Швеция), 12 и 4 мг/мл геля в случае ЛК-4 и эритроагглютинина фасоли [156]. Емкость же ЛЧ-сефарозы составляет всего 2 мг/мл геля (Pharmacia, Швеция). Для очистки пептидазы дрожжей используют (Кон А)-сефарозу с низкой емкостью – 0,5 мг/мл [295].

На связывание рецепторов может влиять и способ иммобилизации лектина на агарозе. Сравнение различных способов активации сефарозы с последующей иммобилизацией Кон А показало, что максимальная емкость сорбента по лектину при минимальной избирательности в отношении гликопротеинов достигается в случае активирования бромцианом, значительное снижение емкости при максимальной избирательности – в случае активирования дивинилсульфоном и промежуточные результаты – при активировании глутаровым альдегидом [321]. Используют также иммобилизованные с помощью карбодиимида лектин-агарозные сорбенты для очистки рецепторов [156]. Отмечено, что независимо от способа активирования агарозы избирательность лектинового сорбента возрастает при нанесении избыточного количества очищаемых гликопротеинов [321]. Причиной необратимого связывания части наносимых гликопротеинов при использовании полученного на бромцианактивированной сефарозе лектинового сорбента (например, ЛЧ-сефарозы) может быть присутствие незаблокированных остатков карбонатных и имидокарбонатных групп, которые устраняются предварительной обработкой активированной агарозы посредством 0,1 н HCl [322]. Для стабилизации лектиновых сорбентов с целью предотвращения вымывания лектина и снижения емкости сорбента, особенно в присутствии детергентов, рекомендуют дополнительную обработку иммобилизованных лектинов глутаровым альдегидом в присутствии соответствующего лектину углевода [58, 318].

III. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЦЕПТОРНЫХ ГЛИКАНОВ С ПОМОЩЬЮ ЛЕКТИНОВЫХ СОРБЕНТОВ

Набор лектинов с известной олигосахаридной специфичностью может служить эффективным инструментом анализа структуры гликанов рецепторов (см. обзоры о специфичности лектинов к гликанам [323, 324] или гликоконъюгатам [21]). Такой анализ часто проводят с помощью комбинированной хроматографии на лектинах цельных гликопротеинов или их гликопептидов и олигосахаридов (примеры см. в обзорах [21, 25, 26]), в том числе в сочетании с обработками гликоконъюгатов гликозидазами, гликозоксидазами, химической модификацией углеводной части или хи-

мическим дегликозилированием. Выбор лектина может оказаться полезным для разделения полученных рецепторов на субпопуляции в зависимости от их микрогетерогенности по углеводам. Например, гликофорин А типа N, в отличие от гликофорина А типа M, не имеет связанных с аспарагином (Asn) гликанов, что позволяет легко разделять оба типа на иммобилизованном ЛЧ [173, 175], но не на ЛП-сорбенте [177]. В то же время гликофорины A, B и C легко отделяются от гликофорина E путем специфического связывания с иммобилизованным ЛП [176]. Антиген Thy-1 не имеет связанных с серином/треонином (Ser/Thr) гликанов и его разделение на три субпопуляции идет за счет Asn-гликанов: не реагирующую с лектином фракцию, задерживающуюся (выходящую в большем объеме элюента) и связывающуюся (за счет гликанов полилактозаминного типа) [161]. Молекулы адгезии N-CAM мозга включают тканеспецифичные Ser/Thr-связанные гликаны со сродством к иммобилизованному ЛА [146], а также полисиаловые кислоты, возможно, реагирующие с лектином слизия [35, 325]. Транспортер гексоз в дефектных клетках имеет немаскированные Asn-гликаны олигоманнозидного типа, а в нормальных клетках эти гликаны маскируются Asn-гликанами комплексного типа, что снижает сродство к Кон A и увеличивает связывание с ЛП [29]. В рецепторах лактотрансферрина и трансферрина обнаруживаются три- и тетраантенные (полиантенные) Asn-гликаны комплексного типа, которых особенно много в рецепторе трансферрина по данным взаимодействия с Л-ФГА [132, 138, 139]. Варьирующее соотношение Asn-связанных гликанов различных типов легко определяется у разных антигенов гистосовместимости и их α - и β -цепей с помощью комбинированной лектиновой хроматографии олигосахаридов: по анализу 3-х фракций после (Кон A)-сорбента, 3-х фракций после (ЛК-1)-сорбента и 2-х фракций после ЛЧ-сорбента [207, 208].

С помощью лектинов установлены олигосахаридная структура β_1 -адренергического рецептора эритроцитов и β -фруктофуранозидазы [70, 284], совместная локализация в субъединицах гликанов олигоманнозидного и комплексного типов в рецепторах дофамина [72], распределение полиантенных, сиалированных, олигоманнозидных гликанов и гликанов с бисектированным остатком N-ацетил-D-глюказамина в 4-х неидентичных субъединицах рецептора ацетилхолина [88]. Выявлено присутствие гликанов лактозаминного типа только в β -субъединице рецептора Ib тромбоцитов и в α_2 -подобном компоненте чувствительного к дигидропиридину Ca-канала или в обеих субъединицах кишечного пептидного рецептора [54, 96, 149], а также у двух субпопуляций рецепторов дофамина, рецепторов освобождающего кортикотропин фактора и α_1 -адренергических рецепторов [65, 75, 115]. С помощью двух иммобилизованных лектинов (Кон A и ЛП) удается обнаружить различия между 6 из 7 гликопротеинов мембран жировых шариков молока с учетом задержки элюции этих гликоконъюгатов [203].

Хроматография на лектинах важна не только для оценки структуры гликанов и устранения микрогетерогенности рецепторов по углеводам, но также и для получения функционально активных субпопуляций рецепторов, например в отношении ферментативной активности рецепторов [57, 110, 314]. В случаях очистки на лектинах гликопротеиновых рецепторов с установленной структурой гликанов, можно учитывать особенности взаимодействия лектина с такого рода стандартными реагентами для дальнейшей стандартизации специфичности лектинов.

При изучении рецепторов набор лектинов может использоваться не только в сочетании с гликозидазами, но и в сочетании с антителами. Покупка, совместное использование лектинов и антител предусматривается во всех процедурах очистки или анализа антигенов, поскольку первоначаль-

но антигены осаждают из экстрактов иммунопреципитацией (в табл. 1 и 2 показано, что в ряде случаев иммуноаффинная хроматография применяется вместе с лектиновым сорбентом). Так как иммунопреципитаты включают набор полипептидов (например, субъединиц), то выявление локализации гликанов в компонентах антигенов с помощью лектинов позволяет говорить о внутриантителной специфичности лектинов. Нередко углеводные структуры в составе гликоконъюгатов сами выступают в роли важных для биоузнавания антигенов [10, 11, 170, 326]. Кроме того, углеводы могут играть существенную роль в функционировании рецепторов, как в случае рецепторов комплемента, транспортной активности Na^+/H^+ -антитпортера и транспортера глюкозы [44, 129, 327]. В других случаях гликаны определенного типа не важны для функционирования рецепторов, например рецептора лютропина или E -кадгерина [104, 328]. Возможно, что гликаны важны для направленной сборки компонентов рецепторов (см. выше), а также служат для заякоривания лектинов и лектиноподобных эффекторов. Резервы для очистки антигенов с помощью лектинов видны из данных по антигенной специфичности лектинов в отношении клеток [329–331].

IV. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ РЕЦЕПТОРАМИ, ЭНДОГЕННЫМИ ЛЕКТИНАМИ И ФЕРМЕНТАМИ

Особенно большой интерес исследователей привлекают антигены лейкоцитов человека и их взаимосвязь с рецепторами адгезии и рецепторами хоминга лимфоцитов [4–9]. Как правило, антигены лейкоцитов являются гликопротеинами [165], например CD 36, CD 43, CD 44, CDw 44 [152, 164, 199, 332, 333], реагирующими с иммобилизованными лектинами. Кроме того, некоторые антигены сами проявляют свойства лектинов (например, CD 14 как связывающий липополисахариды лектин [334]) или адгезинов (например, антигены CD 8, CD 11, CD 19 и др. [335, 336]). Кроме того, антигены часто ассоциированы с ферментами: лейкозный антиген CD 13 является аминопептидазой N [337], CD 45 – протеинтироизинфосфатазой [338], CD 73 – энто-5'-нуклеотидазой [339] и т. д. Антиген 1D 4 из мозга млекопитающих не только ассоциирован с нуклеозиддифосфатазой типа B, но и реагирует с лектинами, образуя таким образом тройной комплекс [340]. При этом ферменты, входя в состав так называемых молекул адгезии на поверхности клеток, активно участвуют в функционировании мембранных каналов (например, в случае Na^+ , K^+ -АТФазы мозга крыс [304]) и служат рецепторами полидоменных белков внеклеточного матрикса (например, в случае 5'-нуклеотидазы мышц кур – рецептора фибронектина [341]). Кроме того, сериновая эстераза необходима для проявления адгезии моноцитов за счет IgG-рецепторов (антигена CD 32), а карбоксипептидаза N (кининаза I), возможно, функционирует с рецепторами пептидных гормонов (кининов) [292, 342]. Важную роль в метаболизме клетки играют и связанные с мембранами ферменты обмена тирозина: тирозилпротеинсульфотрансфераза (реагирует с сиалоспецифичным лектином [256]), тирозиназа (реагирует с α -маннозоспецифичным лектином [253]), тирозинкиназы в составе рецепторов инсулина [260, 343–345]), рецепторов инсулиноподобного фактора роста типа I [120], рецепторов стимулирующего колонии фактора типа I или полученного из тромбоцитов фактора роста [121, 260], рецепторов интерлейкина-3 [162], рецепторов антагониста Ca^{2+} или блокаторов Ca -каналов [52], рецепторов лизосомных ферментов [346]. Рецепторы с тирозинкиназой и другими протеинкиназами специфически реагируют с ЛП (см. табл. 1 и 2), а рецепторы лизосомных ферментов сами проявляют свойства специфичных к маннозо-6-фосфату лектинов. Показано также, что фосфорилирование

белков киназами может ингибиоваться фактором инициации-2, реагирующим со специфичным к остаткам N-ацетилглюкозамина лектином [347], хотя возможно и активирование содержащих киназы рецепторов в результате связывания с сиалоспецифичным лектином [91]. Приведенные данные указывают на тесную взаимосвязь клеточных антигенов, ферментов и лектинов, образующих единую сложную функционирующую систему. Другие примеры модуляции (ингибиования или активирования) мембранных ферментов лектинами были указаны ранее [25]. Перечисленные в табл. 1 и 2 случаи высокоеффективных процедур очистки рецепторов и мембраносвязанных ферментов различных классов по Международной классификации (достижение степени очистки в 50–440 раз на лектиновом сорбенте) являются дополнительным свидетельством возможной важной роли участия эндогенных лектинов в регуляции такого рода рецепторных систем.

Важная роль в биоизучении отводится рецепторным лектинам [10, 12, 20, 326, 348], которые хорошо изучены в случае млекопитающих и представляют собой сложно организованные олигомерные высокомолекулярные гликопротеины с набором функционально различных доменов (типа коллагена, углеводсвязывающих участков, углеводсодержащих участков в качестве мишени для других лектинов, факторов роста, регуляторов системы комплемента и т. д.). Примерами могут служить рецепторы асиалогликопротеинов печени млекопитающих [16], связывающие IgE или IgG рецепторы (антигены CD 16, CD 32, CD 64) [336, 342, 349], рецепторы хоминга [350–356], другие белки адгезии с лектиновыми свойствами [357, 358]. Каждый из указанных выше рецепторных белков при определенных условиях может вести себя в соответствии с функцией одного из экспрессированных доменов, поэтому иногда трудно определить ведет ли себя рецептор как лекチン или как донор углеводов в реакции с другим гликопротеином. В таких случаях помогает анализ первичной структуры аминокислотной последовательности или анализ нуклеотидной последовательности с последующим выявлением участков гомологии с уже изученными лектинами. Так, продемонстрировано сходство лектиновых доменов Fc-рецептора для IgE и содержащего РНК лектина-35 и прочих растворимых лектинов [349, 359, 360], IgE- и IgG-рецепторов [349], ламинин-связывающего рецептора не интегринового типа и лектина-35 [361], молекулы адгезии ELAM-1 и лектинов [358], инсулин-подобного фактора роста II и маннозо-6-фосфат-рецептора [362–364], рецепторов эластина и галактозосвязывающих лектинов [365, 366]. Выявлено биохимическое и иммунологическое сходство рецептора комплемента типа III (антигены CD 11b и CD 18) с лектинами и конглютинином [336, 367], β-глюкан-специфичного рецептора моноцитов (лектина) и рецептора фагоцитоза активаторов альтернативного пути комплемента [368], рецептора циркулирующих маннозильных гликопротеинов из синусоидальных клеток печени (лектина) и лектина мозжечка R1 [369], а также рецепторных лектинов эритроцитов; транспортеров глюкозы и белков полос 3, 4 и 5 [370, 371], транспортера углеводов и связывающего нуклеотиды белка [372]. В лектин-гликоконъюгатных взаимодействиях участвуют и другие рецепторы и антигены, например взаимодействие эндогенного церулоплазмина (ферроксидазы) и эритроцитов человека [373, 374], комплексообразование между антигеном CD 4 и гликопротеином 160 кД оболочки вируса типа 1 иммунодефицита человека [375]; антигенами CD 4, CD 8, CD 2 и CD 3 и митогенными экзогенными (чужеродными) лектинами растений или микробными факторами вирулентности.

Другие примеры сходных между собой рецепторов можно найти в табл. 1. Кроме того, выявлено структурное и функциональное сходство

между рецептором эластина и рецептором ламина [380], а также между рецептором α_2 -макроглобулина и рецептором липопротеинов низкой плотности [381].

Примеры рецепторных лектинов и адгезинов различных организмов (в том числе микроорганизмов) можно также найти в книгах [26, 376]. Помимо указанных выше лектинов с обычной (часто встречающейся) специфичностью к углеводам (маннозо-, галактозо- фукозоспецифичных) следует отметить специфичность новых лектинов в качестве потенциальных инструментов анализа гликоконъюгатов. Рецепторный лигатин специфичен к маннозо-6-фосфату в составе гликопротеинов [26, 319], α -рамнозосвязывающими являются лектины из икры рыб Т-супрессоров [12, 26], рецепторы хоминга лимфоцитов проявляют сиалоспецифичность и сродство к сульфатированным фуканам [353, 354], факторы колонизации бактерий обладают повышенным сродством к сульфатированным гликолипидам [18], адгезивные лектины простейших — паразитов (например, возбудителя амебной дизентерии) относятся к галактозо/N-ацетилгалактозаминспецифичным белкам [377], рецепторные лектины личинок насекомых (например, комаров) являются N-ацетилглюказаминспецифичными [378], домены сорбции на полисахаридах ряда гликозидаз микроорганизмов и рецепторы фагоцитоза макрофагов являются β -глюканспецифичными [27, 368], коровый белок протеогликана хрящей ведет себя как ксилизоспецифичный, фимбрии типа I бактерий и лектины луковиц ряда растений узнают гликаны олигоманнозидного типа [21], лектиновые рецепторы гепатоцитов специфичны к L-глицеро-D-манногентозным остаткам в липополисахаридах [20, 379]. После солюбилизации таких рецепторных лектинов (ферментами, низкой ионной силой и т. д., см. выше) полученные препараты можно использовать в наборе с прочими коммерческими лектинами, как описано выше.

V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Потенциальными мишнями лектинов могут быть не только перечисленные выше гликопротеины (см. также табл. 1 и 2), но и связанные с клеточной поверхностью протеогликаны (например, гиалуронатсвязывающий рецептор или ассоциированная с хитином высокомолекулярная форма щелочной фосфатазы насекомых [199, 268], полисахарида с различной степенью ветвления и типом связи [21, 382], липополисахарида [20, 21, 379], липофосфогликаны [298], гликолипиды [18, 21]. Помимо наружных, связанных с клеточной поверхностью гликоконъюгатов, описано много внутриклеточных связанных с органеллами гликоконъюгатов, реагирующих с широким набором лектинов [11], в том числе поли-А-полимераза, рибонуклеотид-редуктаза и гликопротеин-62 ядерной мембраны [227, 249, 265], галактозилтрансфераза аппарата Гольджи [255], фосфолипаза A₁, тирозинкиназа и α -глюказидаза лизосом [269, 280, 346], фактор инициации-2 рибосом эукариотов [347], гликозидазы процессинга гликопротеинов эндоплазматического ретикулума [281—283] и др. (см. табл. 1 и 2). Описаны процедуры очистки и разделения протеогликанов, полисахаридов и неидентифицированных гликоконъюгатов на лектиновых сорбентах [21, 26, 382, 383]. Гликолипиды после их солюбилизации в 95%-ном тетрагидрофуране с водой могут успешно разделяться на иммобилизованных лектинах, например на (лектин улитки)-сорбенте [384]. Липополисахариды бактерий, в принципе, также можно разделять с помощью избирательной преципитации лектинами, особенно в случае различных липополисахаридов Ra-типа.

Для выявления и идентификации рецепторных гликоконъюгатов используются различные варианты качественного и количественного мик-

роанализа с использованием набора лектинов [21, 27]. Лектин-пероксидные коньюгаты широко применяются в гистохимии, особенно в случаях опухолевых и других болезней человека [385]. Меченные пероксидазой или биотином лектины наиболее широко используют в блотинговых вариантах анализа, например в случае гликопротеинов мембран клеток крови [387], антигенов гистосовместимости [20], сарколеммных гликопротеинов [42] и рецепторов ацетилхолина [88]. Лектиновые коньюгаты этого же типа применяются с использованием планшетов для иммуноферментного анализа при изучении рецепторов нативных клеток прото- и эукариотов [388–390], рецепторов плазматической мембранны [391] или очищенных рецепторов, например эритроцитарных рецепторов для фимбрий типа I бактерий и фосфоманнозильного рецептора [213, 392]. При этом лектиновый анализ в значительной степени дополняет использование антител [18, 386, 393].

Повышенный интерес исследователей проявляется к рецепторам микроорганизмов, как в составе клеточной поверхности эукариотов, так и поверхности самих протокариотов (см. табл. 1 и 2). Это связано с узнаванием типа лектины — гликоконьюгаты в инфекционных и иммунных процессах [13–15, 376], возможностями лектинов в медицинской диагностике [394, 395], а также при работе с бактериями, дрожжами и грибами (например, см. [393, 395–401]).

Данные о взаимодействии лектинов с гликанами растворимых гликопротеинов [24, 26] могут быть использованы в лектиновом анализе связанных с клеточными структурами форм этих гликоконьюгатов, поскольку установлено значительное сходство их углеводной части, как в случае РНКазы T₂-L из *Aspergillus oryzae* [276], β-фруктофуранозидазы редиса [284] и α-1,2-маннозидазы печени млекопитающих [283], а также рекомбинантного гликопротеина-160 вируса СПИД [228]. Такое сходство объясняется общими закономерностями биосинтеза гликанов гликопротеинов в эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи клетки. Кроме того, в процессе секреции гликопротеинов во внеклеточное пространство в ряде случаев гликопротеины остаются связанными с клеточной поверхностью или солюбилизируются эндогенными гидролазами (см. выше о солюбилизации рецепторов).

Следует отметить, что возможности лектинов (даже набора, казалось бы уже довольно хорошо изученных, коммерческих лектинов) еще далеко не исчерпаны, поскольку наши представления о специфичности лектинов к олигосахаридам, гликопептидам, неогликопротеинам (шире — неогликоконьюгатам) и природным гликопротеинам с уже известным расположением гликанов на поверхности белка постоянно углубляются, особенно в последнее время. Практически не исследована специфичность коммерческих лектинов к бактериальным гликопротеинам [22], стероидным гликозидам [402] и углеводсодержащим антибиотикам, гликолипидам животных, липополисахаридам бактерий [21]. Вместе с тем, в настоящее время выявлены новые типы углевод-пептидной связи: Rha-Rha-Rha-Asn в случае бацилл, Gal-β-1,3-GalNAc-Ser/Thr у грибов, Fuc-Ser/Thr [403, 404], Glc-α-1,6-Glc-β-1,6-Glc-α-1-Asn [405], GlcNAc-Ser/Thr [11] у млекопитающих, причем последние две структуры реагируют с иммобилизованными Кон А и ЛП соответственно [11, 405].

Поскольку процедуры получения препаратов лектинов относительно просты [382, 385, 406], а список высокоочищенных лектинов из микроорганизмов, беспозвоночных, растений и животных быстро растет [26, 376], то налицо хорошая перспектива использования лектиновых наборов в качестве тонких инструментов анализа гликоконьюгатов в сочетании с гликозидазами и антителами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Strosberg A. D. Ed. // Molecular Biology of Receptors: Techniques and Applications of Receptor Research. 1987. 235 p.
2. Hedin C.-H., Westermark B. // Eur. J. Biochem. 1989. V. 184. P. 487.
3. Birnbaumer L., Abramowitz J., Yatani A. et al. // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 1990. V. 25. № 4. P. 225.
4. Horejsi V., Bazil V. // Biochem. J. 1988. V. 253. № 1. P. 1.
5. Stoolman L. M. // Cell. 1989. V. 56. № 6. P. 907.
6. Springer T. A. // Nature. 1990. V. 346. № 6283. P. 425.
7. Sher B. T., Bargatzke R., Holzmann B. et al. // Advances Cancer Res. 1988. V. 51. P. 361.
8. Yednock T. A., Rosen S. T. // Advances Immunol. 1989. V. 44. P. 313.
9. Kieran M. W., Blank V., Le Bail O., Israel A. // Res. Immunol. 1989. V. 140. № 4. P. 399.
10. Schauer R. // Biochimie. 1988. V. 70. № 11. P. 1705.
11. Hart G. W., Haltwanger R. S., Holt G. D., Kelly W. G. // Annu. Rev. Biochem. 1989. V. 58. P. 841.
12. Monsigny M., Roche A. C., Kieda C. et al. // Cell to Cell Signals in Plant, Animal and Microbial Symbiosis/Eds. Scannerini S. et al. Berlin: Springer-Verlag, 1988. P. 237.
13. Weir D. M. // FEMS Microbiol. Immunol. 1989. V. 47. № 6–7. P. 331.
14. Sharon N. // Biochem. Soc. Trans. 1989. V. 17. № 1. P. 11.
15. Sharon N. // Science. 1989. V. 246. P. 227.
16. Drickamer K. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 20. P. 9557.
17. Михайлов В. И. // Молекулярная биология. 1989. Т. 23. № 3. С. 639.
18. Karlsson K.-A. // Annu. Rev. Biochem. 1989. V. 58. P. 309.
19. Любимова Н. В., Щербухин В. Д. // Прикл. биохимия и микробиол. 1991. Т. 27. № 1. С. 3.
20. Parent J. B. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 6. P. 3455.
21. Lakhtin V. M. // Lectins: Biology, Biochemistry, and Clinical Biochemistry. V. 8. Eds. A. Kallikorm et al. Saint Louis: Sigma Chemical Company USA, 1991. In press.
22. Lakhtin V. M., Kalinin N. L. // Lectin-Microbe Interactions/Eds. R. J. Doyle, M. Slifkin N. Y.: Marcel Dekker, 1992. In press.
23. Lotan R., Nicolson G. L. // Biochim. Biophys. Acta. 1979. V. 559. № 4. P. 329.
24. Лахтин В. М. // Биотехнология. 1985. Т. 1. № 5. С. 11.
25. Лахтин В. М. // Там же. 1986. Т. 2. № 6. С. 66.
26. Лахтин В. М. // Итоги науки и техники. Сер. «Биотехнология». Т. 2. М.: Изд-во ВИНИТИ, 1987. 290 с.
27. Лахтин В. М. // Биотехнология. 1989. Т. 5. № 6. С. 676.
28. Peerce B. E., Clarke R. D. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 3. P. 1731.
29. Haspel H. C., Revillame J., Rosen O. M. // J. Cell. Physiol. 1988. V. 136. № 2. P. 361.
30. Kanner B. I., Keynan S., Radian R. // Biochemistry. 1989. V. 28. № 9. P. 3722.
31. Stern-Bach Y., Greenberg-Ofrath N., Flechner I., Schuldiner S. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 7. P. 3961.
32. Gordon A. M., Kanner B. I. // Biochim. Biophys. Acta. 1988. V. 944. № 1. P. 90.
33. Danbolt N. C., Pines G., Kanner B. I. // Biochemistry. 1990. V. 29. № 28. P. 6734.
- 33а. Gray S. R., Batstone F. R., Santiapillai N. F., Richardson P. J. // Biochem. J. 1991 V. 273. № 1. P. 165.
34. Gordon D., Moskowitz H., Zlotkin E. // Biochim. Biophys. Acta. 1990. V. 1026. № 1 P. 80.
35. James W. M., Emerick M. C., Agnew W. S. // Biochemistry. 1989. V. 28. № 14. P. 6001.
36. Weiner J. S., Rudy B. // Biochim. Biophys. Acta. 1988. V. 944. № 3. P. 521.
37. Schmidt J. W., Catterall W. A. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 28. P. 13713.
38. Rehm H., Lazdunski M. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 13. P. 4919.
39. Philipson K. D., Longoni S., Ward R. // Biochim. Biophys. Acta. 1988. V. 945. № 2. P. 298.
40. Nicoll D. A., Appleburg M. L. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 27. P. 16207.
41. Reid D. M., Friedel U., Molday R. S., Cook N. J. // Biochemistry. 1990. V. 29. № 6. P. 1601.
42. Michalak M., Fliegel L., Wlasichuk K. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 10. P. 5869.
43. Wohlfart P., Muller H., Cook N. J. // Ibid. 1989. V. 264. № 35. P. 20934.
44. Yusufi A. N. K., Szczepanska-Konkel M., Dousa T. P. // Ibid. 1988. V. 263. № 27. P. 13683.
45. Rengasamy A., Ptasienski J., Hosey M. M. // Biochem. Biophys. Res. Communs. 1985. V. 126. № 1. P. 4.
46. Flockerzi V., Oeken H.-J., Hojmann F. // Eur. J. Biochem. 1986. V. 161. № 1. P. 217.
47. Cooper C. L., Vandaele S., Barhanin J. et al. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 2. P. 509.
48. Soldatov N. M. // Eur. J. Biochem. 1988. V. 173. № 2. P. 327.

49. Kalasz H., Horvath C., Vaghy P. L. // Chromatographia. 1990. V. 30. № 9–10. P. 533.
 50. Kannegiesser U., Nalik P., Pongs O. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 9. P. 2969.
 51. Campbell K. P., Kahl S. D. // Nature. 1989. V. 338. P. 259.
 51a. Yoshida M., Ozawa E. // J. Biochem. 1990. V. 108. № 5. P. 748.
 52. Tuana B. S., Murphy B. J., Yi Q. // Mol. Cell. Biochem. 1988. V. 80. № 1–2. P. 133.
 53. Murphy B. J., Rogers C. A., Sunahara R. K., et al. // Mol. Pharmacol. 1990. V. 37. № 2. P. 173.
 54. Yoshida A., Takahashi M., Fujimoto Y. et al. // J. Biochem. 1990. V. 107. № 4. P. 608.
 55. Chadwick C. C., Saito A., Fleischer S. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. № 6. P. 2132.
 56. Supattapone S., Worley P. F., Baraban J. M., Snyder S. H. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 3. P. 1530.
 57. Theibert A. B., Supattapone S., Ferris C. D. et al. // Biochem. J. 1990. V. 267. № 2. P. 441.
 58. Mourey R. J., Verma A., Supattapone S., Snyder S. H. // Ibid. 1990. V. 272. № 2. P. 383.
 59. Gioannini T., Foucaud B., Hiller J. M. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1982. V. 105. № 3. P. 1128.
 60. Wang F., Li Z.-Y., Chi Z.-G. et al. // Acta Pharmacol. Sinica. 1989. V. 10. № 6. P. 481.
 61. Wong Y. H., Demelio-Mason C. D., Barnard E. A. // J. Neurochem. 1989. V. 52. № 4. P. 999.
 62. Simonds W. F., Burke T. R., Rice K. C. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. № 15. P. 4974.
 63. Valette A., Rouge P., Coulais E. et al. // Life Sci. 1987. V. 40. № 6. P. 535.
 64. Ge B.-L., Zhou D.-H., Zhang H.-P. // Acta Pharmacol. Sinica. 1988. V. 9. № 3. P. 221.
 65. Terman B. I., Reece J. F., Brown R. D., Insel P. A. // Biochem. J. 1988. V. 253. № 2. P. 363.
 66. Terman B. I., Rick R. P., Grodski A. et al. // Mol. Pharmacol. 1990. V. 37. № 4. P. 526.
 66a. Im M.-J., Graham R. M. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 31. P. 18944.
 67. Lomasney J. W., Leeb-Lundberg L. M. F., Cotecchia S. et al. // Ibid. 1986. V. 261. № 17. P. 7710.
 68. Regan J. W., Nakata H., DeMarinis R. M. et al. // Ibid. 1986. V. 261. № 8. P. 3894.
 69. George S. T., Ruoho A. E., Malbon C. C. // Ibid. 1986. V. 261. P. 35. P. 16559.
 70. Cervantes-Olivier P., Durieu-Trautmann O., Delavrier-Klutchko C., Strosberg A. D. // Biochemistry. 1985. V. 24. № 14. P. 3765.
 71. Stiles G. L., Bonovie J. L., Caron M. G., Lefkowitz R. J. // J. Biol. Chem. 1984. V. 259. № 13. P. 8656.
 72. Jarvie K. R., Booth G., Brown E. M., Niznik H. B. // Mol. Pharmacol. 1989. V. 36. № 4. P. 566.
 73. Abbott W. M., Strange P. G. // Biosci. Rep. 1985. V. 5. № 4. P. 303.
 74. Williamson R. A., Worrall S., Chazot P. L., Strange P. G. // EMBO J. 1988. V. 7. № 13. P. 4129.
 75. Leonard M. N., Williamson R. A., Strange P. G. // Biochem. J. 1988. V. 255. № 3. P. 877.
 76. Bosker F. J., Van Bussel F. J., Thielen A. P. et al. // Eur. J. Pharmacol. 1989. V. 163. № 2–3. P. 319.
 77. Elazar Z., Kanety H., David C., Fuchs S. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1988. V. 156. № 1. P. 602.
 78. Cao C. J., Young M. M., Wong J. B. et al. // Membrane Biochem. 1989. V. 8. № 4. P. 207.
 79. Lew R., Grigoriadis D., Wilson A. et al. // Brain Res. 1991. V. 539. № 2. P. 239.
 80. Niznik H. B., Tyndale R. F., Sallee F. R. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 1990. V. 276. № 2. P. 424.
 81. Mitsuhashi M., Payan D. G. // Mol. Pharmacol. 1989. V. 35. № 3. P. 311.
 82. Nathanson J. A., Kantham L., Hunnicutt E. J. // FEBS Lett. 1989. V. 259. № 1. P. 117.
 83. Herron G. S., Schimerlik M. I. // Arch. Biochem. Biophys. 1984. V. 230. № 2. P. 533.
 84. Rauh J. J., Lambert M. P., Cho N. J. et al. // J. Neurochem. 1986. V. 46. № 1. P. 23.
 85. Dmytrenko G. M., Scher M. G., Poiana G. et al. // Exp. Cell Res. 1990. V. 189. № 1. P. 41.
 86. Alperin D. M., Idoyaga-Vargas V. P., Carminatti H. // J. Neurochem. 1986. V. 47. № 3. P. 355.
 87. Alperin D. M., Bouzat C. B., Barrantes F. J. // Biochem. J. 1987. V. 251. № 2. P. 657.

88. Nomoto H., Takahashi N., Nagaki Y. et al. // Eur. J. Biochem. 1986. V. 157. № 2. P. 233.
- 88a. McPherson P. S., Campbell K. P. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 30. P. 18454.
89. Hedo J. A., Harrison L. C., Roth J. // Biochemistry. 1981. V. 20. № 12. P. 3385.
90. Tchilian E. Z., Zhelezarov I. E., Getova T. A., Kojouharova M. S. // Comptes Rendus Acad. Bulg. Sci. 1990. V. 43. № 5. P. 57.
- 90a. Wang C. // Biochim. Biophys. Acta. 1986. V. 888. № 1. P. 107.
91. Whitson R. H., Grimsditch G. K., Sternlicht E. et al. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 10. P. 4789.
92. Azam M., Gupta G., Baquer N. Z. // Biochem. Intern. 1990. V. 22. № 1. P. 45.
93. Huang C.-K. // J. Leukocyte Biol. 1987. V. 41. № 1. P. 63.
94. Fishman J. B., Dickey B. F., Fine R. E. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 29. P. 14049.
95. Kramer W., Girbig F., Gutjahr U., Leipe I. // J. Chromatogr. 1990. V. 521. № 2. P. 199.
96. Nguyen T. D., Williams J. A., Gray G. M. // Biochemistry. 1986. V. 25. № 2. P. 361.
97. Patti S., Akong M., Velicelebi G. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 32. P. 15740.
98. Szecowka J., Hallden G., Goldfine I. D., Williams J. A. // Regul. Peptides. 1989. V. 24. № 3. P. 215.
99. Duong L. T., Hadae E. M., Miller L. J., Vlasuk G. P. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 30. P. 17990.
100. Pearson R. K., Miller L. J., Hadac E. M., Powers S. P. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 28. P. 13850.
101. Petell J. K., Diamond M., Hong W. et al. // Ibid. 1987. V. 262. № 30. P. 14753.
102. Kusuda S., Dufau M. L. // Ibid. 1986. V. 261. № 34. P. 16161.
103. McFarland K. C., Sprengel R., Phillips H. S. et al. // Science. 1990. V. 245. № 4917. P. 494.
104. Keinanen K. P. // Biochem. J. 1988. V. 256. № 3. P. 719.
105. Wimalasena J., Moore P., Wiebe J. P. et al. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 19. P. 10689.
106. Yarney T. A., Sairam M. R., Bhargavi G. N., Mohapatra S. K. // Biochemistry. 1990. V. 29. № 15. P. 3751.
107. Dattatreyamurty B., Zhang S.-B., Reichert L. E. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 10. P. 5494.
108. Kress B. C., Spiro R. G. // Endocrinology. 1986. V. 118. № 3. P. 974.
109. Leedman P. J., Newman J. D., Harrison L. C. // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1989. V. 69. № 1. P. 134.
110. Knuthsen S., Esteve J.-P., Cambillau C. et al. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 2. P. 1129.
111. He H.-T., Rens-Domiano S., Martin J.-M., et al. // Mol. Pharmacol. 1990. V. 37. № 5. P. 614.
112. Lascols O., Capeau J., Cherqui G. et al. // Mol. Cell. Endocrinol. 1989. V. 65. № 1–2. P. 145.
113. Mitani M., Dufau M. L. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 3. P. 1309.
114. Dufau M. L., Kusuda S. // J. Receptor Res. 1987. V. 7. № 1–4. P. 163.
115. Grigoriadis D. E., De Souza E. B. // Endocrinology. 1989. V. 125. № 4. P. 1877.
116. Massaque J. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 11. P. 7059.
117. Ronnstrand L., Beckman M. P., Faulders B. et al. // Ibid. 1987. V. 262. № 7. P. 2929.
118. Mereau A., Pieri I., Gamby C. et al. // Biochimie. 1989. V. 71. № 7. P. 867.
119. Dahmer M. K., Ji L., Perlman R. L. // J. Neurochem. 1989. V. 53. № 4. P. 1036.
120. Le Bon T. R., Jacobs S., Cuatrecasas P. et al. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 17. P. 7685.
121. Majumder S., Brown K., Qiu F. H., Besmer P. // Mol. Cell. Biol. 1988. V. 8. № 11. P. 4896.
122. Asakawa K., Hedo J. A., McElduff A. et al. // Biochem. J. 1986. V. 238. № 2. P. 379.
123. Sinha M. K., Buchanan C., Rainieri-Maldonado C. et al. // Amer. J. Physiol. 1990. V. 258. № 3. Pt 1. P. E534.
124. DiSorbo D., Shi E.-G., McKeehan W. C. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1988. V. 157. № 3. P. 1007.
- 124a. DiPersio J. F., Hedvat C., Ford C. F. et al. // J. Biol. Chem. 1991. V. 266. № 1. P. 279.
125. Traub A., Feinstein S., Gez M. et al. // Ibid. 1984. V. 259. № 22. P. 13872.
126. Zhang Z.-Q., Fournier A., Tan Y. H. // Ibid. 1986. V. 261. № 17. P. 8017.
127. Novick D., Orchansky P., Revel M., Rubinstein M. // Ibid. 1987. V. 262. № 18. P. 8483.
128. Calderon J., Sheehan K. C. F., Chance C. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 13. P. 4837.
129. Vedeler C. A., Matre R., Fischer E. // J. Neuroimmunol. 1989. V. 23. № 3. P. 215.
130. Gorni G., Medgyesi G. A., Garavini M. et al. // Biochem. J. 1987. V. 245. № 1. P. 75.

131. Ashcom J. D., Tiller S. E., Dickerson K. et al. // J. Cell. Biol. 1990. V. 110. № 4. P. 1044.
132. Hu W.-L., Mazurier J., Montreuil J., Spik G. // Biochemistry. 1990. V. 29. № 2. P. 535.
133. Johansson S., Forsberg E., Lundgren B. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 16. P. 7849.
134. Tarone G., Mascarello P., Zibetti M., Giancotti F. G. // Eur. J. Biochem. 1988. V. 172. № 3. P. 713.
135. Stamatoglou S. C., Rui-Chang G., Mills G. et al. // J. Cell. Biol. 1990. V. 111. № 5. P. 2117.
136. Brown E., Hooper L., Ho T., Greshman H. // Ibid. 1990. V. 111. № 6. P. 2785.
137. Darribere T., Guida K., Larjava H. et al. // Ibid. 1990. V. 110. № 5. P. 1813.
138. Gleeson P. A., Dias V. // Biochim. Biophys. Acta. 1990. V. 1036. № 1. P. 47.
139. Poola I., Lucas J. J. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 35. P. 19437.
140. Cheresh D. A. // Progress Clin. Biol. Res. 1989. V. 288. P. 3.
141. Charo I. F., Nannizzi L., Smith J. W., Cheresh D. A. // J. Cell. Biol. 1990. V. 111. № 6. P. 2797.
142. Smith J. W., Vestal D. J., Irwin S. V. et al. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 19. P. 11008.
143. Albelada S. M., Daise M., Levine E. M., Buck C. A. // J. Clin. Invest. 1989. V. 83. № 6. P. 1992.
144. Ignatius M. J., Reichardt L. F. // Neuron. 1988. V. 1. № 8. P. 743.
145. Albelada S. M., Oliver P. D., Romer L. H., Buck C. A. // J. Cell. Biol. 1990. V. 110. № 4. P. 1227.
146. Walsh F. S., Parekh R. B., Moore S. E. et al. // Development. 1989. V. 105. № 4. P. 803.
147. Ozawa M., Sato M., Muramatsu H. et al. // Exp. Cell Res. 1985. V. 158. № 1. P. 127.
148. Canfield V. A., Ozols J., Nugent D., Roth G. J. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987. V. 147. № 2. P. 526.
149. Wicki A. N., Clemetson K. J. // Eur. J. Biochem. 1987. V. 163. № 1. P. 43.
150. Fitzgerald L. A., Leung B., Phillips D. R. // Anal. Biochem. 1985. V. 151. № 1. P. 169.
151. Tsuji T., Osawa T. // J. Biochem. 1986. V. 100. № 4. P. 1077.
152. Tandon N. N., Lipsky R. H., Burgess W. H., Jamieson G. A. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 13. P. 7570.
153. Shimomura T., Fujimura K., Maehama S. et al. // Blood. 1990. V. 75. № 12. P. 2349.
154. Roth G. J., Ozols J., Nugent D. J., Williams S. A. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1988. V. 156. № 2. P. 931.
155. Ushikubi F., Nakajima M., Hirata M. et al. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 28. P. 16496.
156. Tsuji T., Osawa T. // J. Biochem. 1987. V. 101. № 1. P. 241.
157. Korrel S. A. M., Clemetson K. J., Van Halbeek H. et al. // Eur. J. Biochem. 1984. V. 140. № 3. P. 571.
158. Dupuis G., Doucet J.-P., Bastin B., Cardin J. // Biochem. Cell. Biol. 1985. V. 63. № 9. P. 932.
159. De Maio A., Lis H., Gershoni J. M., Sharon N. // FEB\$ Lett. 1986. V. 194. № 1. P. 28.
160. Carlsson S. R., Stigbrand T. I. // Biochem. J. 1983. V. 211. P. 641.
161. Morrison M. H., Lynch R. A., Esselman W. J. // Mol. Immunol. 1986. V. 23. № 1. P. 63.
162. Mui A. L.-F., Sorensen P. H. B., Kay R. J., Krystal G. // J. Cell. Biochem. 1989. Supplement. 13C. P. 29.
163. Galizzi J.-P., Castle B., Djossou O. et al. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 1. P. 439.
164. Flanagan B. F., Dalchau R., Allen A. K. et al. // Immunology. 1989. V. 67. № 2. P. 1467.
165. Stefanova I., Hilgert I., Angelisova H., Horejsi V. // Folia Biol. 1988. V. 34. № 4. P. 255.
166. Fukuda M., Carlsson S. R. // Med. Biol. 1986. V. 64. № 6. P. 335.
167. Carlsson S. R., Fukuda M. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 27. P. 12779.
168. Danska J. S., McIntyre B. W., McDevitt H. O. // Intern. Immunol. 1990. V. 2. № 9. P. 795.
169. Yazawa S., Furukawa K., Kochibe N. // J. Biochem. 1984. V. 96. № 6. P. 4737.
170. Yazawa S., Kochibe N., Asao T. // Immunol. Invest. 1990. V. 19. № 4. P. 319.
171. Estelrich J., Montero M. T. // J. Biochem. 1989. V. 106. № 5. P. 745.
172. Cartron J.-P., Blanchard D. // Biochem. J. 1982. V. 207. P. 497.
173. Blumenfeld O. O., Adamany A. M., Kikuchi M. et al. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 12. P. 5544.
174. Yanagi K., Ohyama K., Yamakawa T., Ohkuma S. // Int. J. Biochem. 1990. V. 22. № 9. P. 1015.
175. Blumenfeld O. O., Smith A. J., Moulds J. J. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 24. P. 11864.

176. Corradini D., Rassi Z. E., Horvath C. et al. // J. Chromatogr. 1988. V. 458. P. 1.
 177. Pinnaduwage P., Huang L. // Biochim. Biophys. Acta. 1989. V. 986. № 1. P. 106.
 178. Furukawa K., Minor J. E., Hegarty J. D., Bhavanandan V. P. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 17. P. 7755.
 179. Zhang S.-M., Yang Z.-M., Li J.-X. // Acta Biochim. Biophys. Sinica. 1987. V. 19. № 2. P. 109.
 180. Wiseman G. M., McNicol P. // Can. J. Microbiol. 1982. V. 28. № 2. P. 219.
 181. Lei H., Ce S. // Acta Biochim. Biophys. Sinica. 1990. V. 22. № 3. P. 252.
 182. Tsuchida K., Wells M. A. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 10. P. 5761.
 183. Satoh M., Yamazaki M. // J. Pharmacobio-Dynamics (Japan). 1987. V. 10. № 11. P. 608.
 184. Ohkuma Y., Komano H., Natori S. // J. Biochem. 1988. V. 103. № 3. P. 402.
 185. Geary S. J., Gabridge M. G. // Isr. J. Med. Sci. 1987. V. 23. P. 462.
 186. Marshall B. C., Joyce-Brady M. F., Brody J. S. // Biochim. Biophys. Acta. 1988. V. 966. № 3. P. 403.
 187. Renauer D., Oesch F., Kinkel J. et al. // Anal. Biochem. 1985. V. 151. № 2. P. 424.
 188. Szerlip H. M., Cox M. // J. Steroid Biochem. 1989. V. 32. № 6. P. 815.
 189. Cummings R. D., Soderquist A. M., Carpenter G. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 22. P. 11944.
 190. Kittelberger R., Neale T. J. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1990. V. 172. № 2. P. 439.
 191. Christie D. L., Palmer D. J. // Biochem. J. 1990. V. 270. № 1. P. 57.
 192. Do K.-Y., Smith D. F., Cummings R. D. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1990. V. 173. № 3. P. 1423.
 193. Chen Z., Pace U., Ronen D., Lancet D. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 3. P. 1299.
 194. Allen W. K., Akeson R. // J. Neurochem. 1985. V. 5. № 2. P. 284.
 195. Schmelzer C. H., Poduslo S. E. // Biochim. Biophys. Acta. 1987. V. 903. № 1. P. 103.
 196. Schmelzer C. H., Poduslo S. E. // Biochim. Biophys. Acta. 1986. V. 858. № 1. P. 56.
 197. Mikol D. D., Stofansson K. // J. Cell. Biol. 1988. V. 106. P. 1273.
 198. Maeda N., Niinobe M., Nakahira K., Mikoshiba K. // J. Neurochem. 1988. V. 51. № 6. P. 1724.
 199. Marks M. S., Chi-Rosso G., Toole B. P. // Ibid. 1990. V. 54. № 1. P. 171.
 200. Пегренко А. Г., Суркова И. Н., Шамогиенко О. Г. и др. // Биоорган. химия. 1990. Т. 16. № 2. С. 158.
 201. Petrenko A. G., Kovalenko V. A., Shamotienko O. G. et al. // EMBO J. 1990. V. 9. № 6. P. 2023.
 202. Tejedor F. J., Catterall W. A. // Cell. Mol. Neurobiol. 1990. V. 10. № 2. P. 257.
 203. Kanno C. // Agric. Biol. Chem. 1986. V. 50. № 12. P. 2997.
 204. Jokinen O., Gueant J. L., Schohn H., Grasbeck R. // Glycoconjugate J. 1989. V. 6. № 4. P. 525.
 205. Rogers M. L., Robinson E. A., Apella E. // J. Biol. Chem. 1979. V. 254. № 21. P. 11126.
 206. Katagiri Y. U., Kijimoto-Ochiai S., Hatae T., Okuyama H. // Compar. Biochem. Physiol. 1989. B-93. № 2. P. 259.
 207. Iturbe S., Narasimhan S., Letarte M. // J. Immunol. 1986. V. 136. № 12. P. 4596.
 208. Neel D., Merlu B., Turpin E. et al. // Biochem. J. 1987. V. 244. № 2. P. 433.
 209. Arita Y., Ogata S.-I., Ozawa M., Muramatsu T. // Differentiation. 1985. V. 28. № 3. P. 254.
 210. Laferte S., Dennis J. W. // Biochem. J. 1989. V. 259. № 2. P. 569.
 211. Laferte S., Dennis J. W. // Cancer Res. 1988. V. 48. № 17. P. 4743.
 212. Fukuda M. N., Dell A., Oates J. E., Fukuda M. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 11. P. 6623.
 213. Giampapa C. S., Abraham S. N., Chiang T. M., Beachey E. H. // Ibid. 1988. V. 263. № 11. P. 5362.
 214. Bardales R., Bhavanandan V. P., Wiseman G., Bramwell M. E. // Ibid. 1989. V. 264. № 4. P. 1980.
 215. Lin J. C., Ligman L. K., Farber E. // Cancer Res. 1980. V. 40. № 10. P. 3755.
 216. Ogata S.-I., Lloyd K. O. // Arch. Biochem. Biophys. 1982. V. 217. № 2. P. 665.
 217. Ikebara Y., Hayashi Y., Ogata S. et al. // Biochem. J. 1987. V. 241. № 1. P. 63.
 218. Josic D., Hofmann W., Habermann R., Reutter W. // J. Chromatogr. 1988. V. 444. P. 29.
 219. Vallee B. L., Riordan J. F., Lobb R. R. et al. // Experientia. 1985. V. 41. № 1. P. 1.
 220. Muramatsu H., Muramatsu T. // J. Biochem. 1990. V. 107. № 4. P. 629.
 221. Ervasti J. M., Ohlendieck K., Kahl S. D. et al. // Nature. 1990. V. 345. № 6273. P. 315.
 222. Cocchiara R., Tarro G., Flaminio G. et al. // Cancer. 1980. V. 46. № 7. P. 1594.
 223. Qualtiere L. F., Chase R., Pearson G. R. // J. Immunol. 1982. V. 129. № 2. P. 814.
 224. Sachs J. A., Kuo M. C., Johnson A. H. et al. // J. Immunol. Meth. 1984. V. 73. № 2. P. 387.
 225. Krah D. L. // Virology. 1989. V. 172. № 1. P. 386.

226. Mischak H., Neubauer C., Kuechler E., Blaas D. // Ibid. 1988. V. 163. № 1. P. 19.
 227. Starr C. M., Hanover J. A. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 12. P. 6868.
 228. Barrett N., Mitterer A., Mundt W. et al. // AIDS Res. Human Retroviruses. 1989. V. 5. № 2. P. 159.
 229. Haraguchi T., Fischer S., Olofsson S. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 1989. V. 274. № 1. P. 1.
 230. Gigliotti F., Ballou L. R., Hughes W. T., Mosley B. D. // J. Infect. Diseases. 1988. V. 158. № 4. P. 848.
 231. Stompe H., Drescher M., Mebel S., Rustenbach S. // Пат. 3095875 Германия. 1989; РЖБиология. 1990. № 1. Реферат Ц 43.
 232. Narasu M. L., Gopinathan K. P. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1986. V. 141. № 2. P. 756.
 233. Simoneau P., Labarere J. // Arch. Microbiol. 1989. V. 152. № 5. P. 488.
 234. Rossell R. J., Stevens A. F., Miles M. A., Allen A. K. // Parasitol. Res. 1990. V. 76. № 4. P. 294.
 235. Boutigny F., Hublart M., Gomes V. et al. // Biol. Cell. 1988. V. 64. № 2. P. 131.
 236. Harth G., Haidaris C. G., So M. // Mol. Biochem. Parasitol. 1989. V. 33. № 2. P. 143.
 237. Couto A. S., Goncalves M. F., Colli W., De Lodeskremer R. M. // Ibid. 1990. V. 39. № 1. P. 101.
 238. Willadsen P., Risling C. A., McKenna R. V. et al. // J. Immunol. 1989. V. 143. P. 1346.
 239. Maizes R. M., Gregory W. F., Kwan-Lim G.-E., Selkirk M. E. // Mol. Biochem. Parasitol. 1989. V. 32. № 2–3. P. 213.
 240. Hayunga E. G., Sumner M. P. // J. Parasitol. 1986. V. 72. № 2. P. 283.
 241. Hayunga E. G., Sumner M. P. // Ibid. 1986. V. 72. № 6. P. 913.
 242. Karcz S. R., Barnard B. J., Podesta R. B. // Mol. Biochem. Parasitol. 1988. V. 31. № 2. P. 163.
 243. MacGregor A. N., Kusel J. R. // Ibid. 1989. V. 34. № 3. P. 237.
 244. Clark N. W. T., Philipp M., Parkhouse R. M. E. // Biochem. J. 1982. V. 206. № 1. P. 27.
 245. Saxe C. L., Sussman M. // Cell. 1982. V. 29. № 3. P. 755.
 246. Kubohara Y., Okamoto K. // Biochem. Cell Biol. 1990. V. 68. № 4. P. 699.
 247. Hearn W. M., Mackenzie D. W. R. // Mol. Immunol. 1980. V. 17. № 9. P. 1097.
 248. Ludwig-Muller J., Hilgenberg W. // Physiol. Plant. 1988. V. 74. № 2. P. 240.
 249. Sikorska M., Brewer L. M., Youdale T. et al. // Biochem. Cell Biol. 1990. V. 68. № 5. P. 880.
 250. Nelson J. L., Kulkarni A. P. // Biochem. J. 1990. V. 268. № 3. P. 739.
 251. Shorr R. G. L., Minnich M. D., Varrichio A. et al. // Mol. Pharmacol. 1987. V. 32. № 2. P. 195.
 252. Richard F., Buda M., Legay F. // J. Neurochem. 1988. V. 51. № 4. P. 1140.
 253. Vachtenheim J., Duchon J., Matous B. // Compar. Biochem. Physiol. 1987. B-87. № 4. P. 709.
 254. Suganuma T., Muramatsu H., Murata F., Muramatsu T. // J. Biochem. 1987. V. 102. № 3. P. 665.
 255. Chappell T. G., Warren G. // J. Cell Biol. 1989. V. 109. № 6. Pt 1. P. 2693.
 256. Niehrs C., Huttner W. B. // EMBO J. 1990. V. 9. № 1. P. 35.
 257. Brandan E., Hirschberg C. B. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 5. P. 2417.
 258. Chalifour R. J., Spiro R. G. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 30. P. 15673.
 259. Majumder R., Jayanthi L. D., Balasubramanian A. S. // Ind. J. Biochem. Biophys. 1988. V. 25. № 4. P. 303.
 260. Lowe W. L., LeRoith D. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1986. V. 134. № 2. P. 532.
 261. Cheng N., Sahyoun N. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 5. P. 2417.
 262. Matin M., Lovett D. H., Resch K. // Biol. Chem. Hoppe-Seyler. 1985. V. 366. № 9. P. 822.
 263. Molla A., Demaille J. G. // Biochemistry. 1986. V. 25. № 1. P. 3415.
 264. Peterson J. E., Larew J. S.-A., Graves D. J. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 28. P. 17062.
 265. Kurl R. N., Holmes S. C., Verney E., Sidransky H. // Biochemistry 1988. V. 27. № 25. P. 8974.
 266. Natsuka S., Himeno M., Hase S. et al. // J. Biochem. 1988. V. 103. № 6. P. 986.
 267. Harano T., Miyata T., Lee S. et al. // J. Biochem. 1988. V. 103. № 1. P. 149.
 268. Psachoulia C., Bourtzis K., Marmaras V. J. // Arch. Insect. Biochem. Physiol. 1989. V. 11. № 4. P. 217.
 269. Loffler B.-M., Kunze H. // Biochem. Intern. 1989. V. 18. № 1. P. 129.
 270. Loffler B.-M., Kunze H. // Biochim. Biophys. Acta. 1989. V. 1003. № 3. P. 225.
 271. Avila J. L., Hernandez-Morales D., Polegre M. A., Convit J. // Comp. Biochem. Physiol. 1989. V. 94. № 2. P. 335.
 272. Sacci J. B., Campbell T. A., Gottlieb M. // Exp. Parasitol. 1990. V. 71. № 2. P. 158.
 273. Naito Y., Lowenstein J. M. // Biochemistry. 1981. V. 20. № 18. P. 5188.

274. Hir M. L., Gandhi R., Dubach U. C. // Enzyme. 1989. V. 41. № 2. P. 87.
 275. Peeters C., De Wolf M., Dessel G. et al. // Int. J. Biochem. 1988. V. 20. № 4. P. 409.
 276. Kanaya S., Uchida T. // J. Biochem. 1981. V. 90. № 2. P. 473.
 277. Reddy G., Shankar V. // Appl. Biochem. Biotechnol. 1989. V. 22. № 3. P. 237.
 278. Zou L., Kojima N., Kito M., Yagi K. // Biotechnol. Appl. Biochem. 1989. V. 11. № 2. P. 217.
 279. Yano T., Funakoshi I., Yamashina Y. // J. Biochem. 1985. V. 98. № 4. P. 1097.
 280. Sano S.-L., Matsuda Y., Nakagawa H. // Eur. J. Biochem. 1988. V. 171. № 1-2. P. 231.
 281. Tsuji A., Suzuki Y. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1988. V. 151. № 3. P. 1358.
 282. Saxena S., Shailubhai K., Dong-Yu B., Vijay I. K. // Biochem. J. 1987. V. 247. № 3. P. 563.
 283. Kaushal G. P., Pastuszak I., Hatanaka K.-I., Elbein A. D. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 27. P. 16271.
 284. Forsee W. T., Palmer C. F., Schutzbach J. S. // Ibid. 1989. V. 264. № 7. P. 3869.
 285. Faye L., Mouatassim B., Ghorbel A. // Plant Physiol. 1986. V. 80. № 1. P. 27.
 286. Jahagirdar A. P., Downer R. G. H., Viswanatha T. // Insect Biochem. 1990. V. 20. № 5. P. 511.
 287. Yokota K., Takesue Y. // J. Biochem. 1988. V. 103. № 1. P. 132.
 288. Naim H. Y., Sterchi E. E., Lentze M. J. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 15. P. 7242.
 289. Godknecht A., Honegger T. G. // Dev. Biol. 1991. V. 143. № 2. P. 398.
 290. Hartel S., Hanski C., Kreisel W. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 1987. V. 924. № 3. P. 543.
 291. Josic D., Zeilinger K., Lim Y.-P. et al. // J. Chromatogr. 1989. V. 484. P. 327.
 292. Ito Y., Mizutani S., Kurauchi O. et al. // Enzyme. 1989. V. 42. № 1. P. 8.
 293. Skidgel R. A., Davis R. M., Tan F. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 4. P. 2236.
 294. See H., Reithmeier R. A. F. // Biochem. J. 1990. V. 271. № 1. P. 147.
 295. Miyakawa T., Kaji M., Jeong Y. K. et al. // J. Bacteriol. 1987. V. 169. № 4. P. 1626.
 296. Wright E. P., Amin E. R. M. // Ibid. 1989. V. 67. № 9. P. 525.
 297. Vega-Saenzade Miera E. C., Rubalcava B. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1988. V. 156. № 1. P. 30.
 298. Aoyama A., Chen W.-T. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. № 21. P. 8296.
 299. Oizumi J., Hayakawa V. // Biochem. J. 1990. V. 266. № 2. P. 427.
 300. Kim D. J., Byun S. M. // Biochim. Biophys. Acta. 1990. V. 1040. № 1. P. 12.
 301. De Wolf M., Lagron A., Hilderson H. J. et al. // Investigation of Membrane-located Receptors/Eds. E. Reid et al. N. Y.: Plenum Press, 1984. P. 233.
 302. Akayama M., Nakada H., Omori K. et al. // Cell Struct. Funct. 1986. V. 11. № 3. P. 259.
 303. Omori K., Takemura S., Omori K. et al. // J. Biochem. 1983. V. 94. № 6. P. 1857.
 304. Okamoto C. T., Karpilow J. M., Smolka A., Forte J. G. // Biochim. Biophys. Acta. 1990. V. 1037. № 3. P. 360.
 305. Gllor S., Antonicek H., Sweedner K. J. et al. // Experientia. 1990. V. 46. Abstracts. P. 7.
 306. Kirley T. C. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 25. P. 12682.
 307. Lieberman D. M., Reithmeier R. A. F., Ling V. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1989. V. 162. № 1. P. 244.
 308. Hamada H., Tsuruo T. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 3. P. 1454.
 309. Hamada H., Tsuruo T. // Cancer Res. 1988. V. 48. № 17. P. 4926.
 309a. Yamagata S. K., Noremberg K., Parsons S. M. // J. Neurochem. 1989. V. 53. № 5. P. 1345.
 310. Fesenko E. E., Novoselov V. I., Bystrova M. F. // FEBS Lett. 1987. V. 219. № 1. P. 224.
 311. Fernley R. T., Coghan J. P., Wright R. D. // Biochem. J. 1988. V. 249. P. 201.
 312. Smigel M. D. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. № 4. P. 1976.
 313. Зайцева Ф. В., Петров В. М., Елистратова Е. Ю., Липкин В. М. // Биол. мембранны. 1988. Т. 5. № 11. С. 1125.
 314. Takayanagi R., Snajdar R. M., Imada T. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987. V. 144. № 1. P. 244.
 315. Waldman S. A., Chang L. Y., Murad F. // Prepar. Biochem. 1985. V. 15. № 3. P. 103.
 316. Ramarao C. S., Garbers D. L. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 3. P. 1524.
 317. Brody T., Suttie J. W. // Biochim. Biophys. Acta. 1987. V. 923. № 1. P. 1.
 318. Scher M. G., Résneck W. G., Bloch R. J. // Anal. Biochem. 1989. V. 177. № 1. P. 168.
 319. Jakoi E. R., Ross P. E., Ting-Beall H. P. et al. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 3. P. 1300.
 320. Shemer J., Le Roith D. // Neuropeptides. 1987. V. 9. № 1. P. 1.
 321. Zhao Y.-J., Belew M. // Biotechnol. Appl. Biochem. 1986. V. 8. № 1. P. 75.
 322. Tercero J. C., Diaz-Maurino T. // Anal. Biochem. 1988. V. 174. № 1. P. 128.
 323. Osawa T. // Pure Appl. Chem. 1989. V. 61. № 7. P. 1283.
 324. Gallagher J. T. // HPLC of Macromolecules/Ed. R. W. A. Oliver. Oxford: IRL Press, 1989. P. 209.

325. Paulson J. C. // Trends Biochem. Sci. 1989. V. 14. № 7. P. 272.
326. Rademacher T. W., Parekh R. B., Dwek R. A. // Annu. Rev. Biochem. 1988. V. 57. P. 785.
327. Feugeas J.-P., Neel D., Pavia A. A. et al. / Biochim. Biophys. Acta. 1990. V. 1030. № 1. P. 60.
328. Shirayoshi Y., Nose A., Iwasaki K., Takeichi M. // Cell Struct. Funct. 1986. V. 11. № 3. P. 245.
329. Wu A. M., Sugii S. // Molecular Immunology of Complex Carbohydrates./Eds. A. M. Wu., L. C. Adams. N. Y.: Plenum Press, 1988. P. 205.
330. Osawa T. // Ibid. P. 83.
331. Lis H., Sharon N. // Lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine/Eds. I. E. Liener et al. Orlando: Acad. Press, 1986. P. 293.
332. Pallant A., Fukuda M., Frelinger J. G. // Eur. J. Immunol. 1990. V. 20. № 7. P. 1423.
333. Aruffo A., Stamenkovic I., Melnick M., Underhill C. B. // Cell. 1990. V. 61. № 7. P. 1303.
334. Wright S. D., Ramos R. A., Tobias P. S. et al. // Nature. 1990. V. 249. № 4975. P. 1431.
335. Hambor J. E., Kaplan D. R., Tykocinski M. L. // J. Immunol. 1990. V. 145. № 6. P. 1646.
336. Majima T., Minegishi N., Nagatomi R. et al. // Ibid. 1990. V. 145. № 6. P. 1694.
337. Noren O., Dabelsteen E., Hoyer P. E. et al. // FEBS Lett. 1989. V. 259. № 1. P. 107.
338. Tonks N. K., Charbonneau H., Diltz C. D. et al. // Biochemistry. 1988. V. 27. № 24. P. 8695.
339. Massaia M., Perrin L., Biachi A. et al. // J. Immunol. 1990. V. 145. № 6. P. 1664.
340. Sano S.-I., Ito S., Nakamura M., Nakagawa H. // J. Neurochem. 1990. V. 55. № 4. P. 1252.
341. Stochaj U., Richter H., Mannherz H. G. // Eur. J. Cell Biol. 1990. V. 51. № 2. P. 335.
342. Van de Winkel J. G. J., Jansze M., Capel P. J. A. // J. Immunol. 1990. V. 145. № 6. P. 1890.
343. Van Obberghen E., Gazzano H., Kowalski A. et al. // Biochem. Soc. Trans. 1984. V. 12. № 5. P. 762.
344. Feige J.-J., Chambaz E. M. // Biochimie. 1987. V. 69. № 4. P. 379.
345. Srivastava A. K., Chiasson J.-L. // Biochim. Biophys. Acta. 1989. V. 996. № 1–2. P. 13.
346. Panneerselvam K., Ramamoorthy S., Balasubramanian A. S. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987. V. 147. № 3. P. 927.
347. Datta B., Ray M. K., Chakrabarti D. et al. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 34. P. 20620.
348. Королев Н. П. Итоги науки и техники. Сер. «Общие проблемы физико-химической биологии». Т. 1. М.: Изд-во ВИНИТИ, 1984. 351 с.
349. Liu F.-T. // Crit. Rev. in Immunol. 1990. V. 10. № 3. P. 289.
350. Siegelman M. H., Van De Rijn M., Weissman I. L. // Science. 1989. V. 243. № 4895. P. 1165.
351. Tavassoli M., Hardy C. L. // Blood. 1990. V. 76. № 6. P. 1059.
352. Pals S. T., Horst E., Ossekoppele G. J. // Ibid. 1989. V. 73. № 4. P. 885.
353. Imai Y., True D. D., Singer M. S., Rosen S. D. // J. Cell. Biol. 1990. V. 111. № 3. P. 1225.
354. Rosen S. D., Singer M. S., Yednock T. A., Stoolman L. M. // Science. 1985. V. 228. P. 1005.
355. Matsuoka T., Tavassoli M. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 34. P. 20193.
356. Di Corleto P. E., De La Motte C. A. // J. Immunol. 1989. V. 143. № 11. P. 3666.
357. Marx J. L. // Science. 1989. V. 243. № 4895. P. 1144.
358. Bevilacqua M. P., Stengelin S., Gimbrone M. A., Seed B. // Science. 1989. V. 243. № 4895. P. 1160.
359. Laing J. G., Robertson M. W., Gritzammer C. A., Wong J. L. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 4. P. 1907.
360. Ikuta K., Takami M., Kim C. W. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1987. V. 84. № 3. P. 819.
361. Woo H.-J., Shaw L. M., Messier J. M., Mercurio A. M. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. № 13. P. 7097.
362. MacDonald R. G. // Cytotechnology. 1989. V. 2. № 4. P. 287.
363. MacDonald R. G., Pfeffer S. R., Coussens L. et al. // Science. 1988. V. 239. № 4844. P. 1134.
364. Kiess W., Blickenstaff G. D., Sklar M. M. et al. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 19. P. 9339.
365. Hinek A., Wrenn D. S., Mecham R. P., Barondes S. H. // Science. 1988. V. 239. № 4847. P. 1539.
366. Grossi L. E., Mechan R. P. // Glycoconjugate J. 1989. V. 6. № 3. P. 384.
367. Ross C. D., Cain J. A., Lachmann P. J. // J. Immunol. 1985. V. 134. № 5. P. 3307.
368. Czop J. K., Austen K. F. // Ibid. 1985. V. 134. № 4. P. 2588.

369. Zanetta J. P., Bingen A., Dontenwill-Kieffer M. et al. // Cell Mol. Biol. 1987. V. 33. № 4. P. 423.
370. Langdon R. G., Holman V. P. // Biochim. Biophys. Acta. 1988. V. 945. № 1. P. 23.
371. Pawagi A. B., Deber C. M. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987. V. 145. № 3. P. 1087.
372. Carruthers A., Helgerson A. L. // Biochemistry. 1989. V. 28. № 21. P. 8337.
373. Саенко Е. Л., Басевич В. В., Ярополов А. И. // Биохимия. 1988. Т. 53. № 8. С. 1310.
374. Саенко Е. Л., Басевич В. В. // Уч. зап. Тартуского ун-та. Вып. 870. Изучение и применение лектинов. Т. 2. Тарту: Изд-во Тартуского ун-та, 1989. С. 48.
375. Jabbar M. A., Nayak D. P. // J. Virol. 1990. V. 64. № 12. P. 6297.
376. Mirelman D. Ed. Microbial Lectins and Agglutinins. N. Y.: J. Wiley and Sons, 1986. 443 p.
377. Ravdin J. I., Jackson T. F. H. G., Petri W. A. // Infect. Immun. 1990. V. 162. № 3. P. 768.
378. Muthukumar G., Nickerson K. W. // Appl. Environm. Microbiol. 1987. V. 53. № 11. P. 2650.
379. Kawasaki N., Kawasaki T., Yamashita I. // J. Biochem. 1989. V. 106. № 3. P. 483.
380. Mecham R. P., Hinek A., Griffin G. L. et al. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 28. P. 16652.
381. Strickland D. K., Ashcom J. D., Williams S. et al. // Ibid. 1990. V. 265. № 29. P. 17401.
382. Goldstein I. L., Poretz R. D. // Lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine/Eds. I. E. Liener et al. Orlando: Acad. Press, 1986. P. 35.
383. Lakhtin V. M. // Lectins: Biology, Biochemistry Clinical Biochemistry. V. 7./Eds. J. Kocourek et al. Saint Louis: Sigma Chemical Company USA, 1990. P. 417.
384. Torres B. V., Smith D. F. // Anal. Biochem. 1988. V. 170. № 1. P. 209.
385. Луцкік А. Д., Детюк Е. С., Луцкік М. Д. Лектини в гистохімії. Львов: Вища шк., 1989. 144 с.
386. Schumacher U., Trudrung P., Ruhnke M. et al. // Histochem. J. 1990. V. 22. № 8. P. 433.
387. Луцкік М. Д. Автореф. дис. ... докт. біол. наук. Київ: Інст біохімії АН УССР, 1989. 42 с.
388. Graham K., Keller K., Ezzell J., Doyle R. // Eur. J. Clin. Microb. 1984. V. 3. № 3. P. 210.
389. Martinod S. R. // Prepar. Biochem. 1985. V. 15. № 3. P. 171.
390. Geveriaux C., Loor F. // J. Immunol. Meth. 1987. V. 104. № 1–2. P. 173.
391. Hendriks H. G. C. J. M., Koninkx J. F. J. G., Draijer M. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 1987. V. 905. № 2. P. 371.
392. Distler J. J., Patel R., Jourdian G. W. // Anal. Biochem. 1987. V. 166. № 1. P. 65.
393. Flemming J., Flemming C., Laube K. et al. // Proc. XI Int. Lectin Meet. (June 4–9, 1989, Tartu-Tallinn). Abstracts. P. 18.
394. Slifkin M., Doyle R. // Clin. Microbiol. Rev. 1990. V. 3. № 3. P. 197.
395. Лахтин В. М., Гусева Н. И., Федуркина Н. В. и др. // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1985. № 1. С. 30.
396. Брилис В. И., Микельсаар М. Э., Касесалу Р. Х. и др. // Уч. зап. Тартуского ун-та. Вып. 870. Изучение и применение лектинов. Т. 2. Тарту: Изд-во Тартуского ун-та, 1989. С. 230.
397. Flemming I., Flemming C. // Proc. X Int. Lectin Meet. (July 3–8, 1988, Prague). Abstractbook. P. 31.
398. Лахтин В. М., Яковлева З. М. // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1987. № 5. С. 792.
399. Любимова Н. В., Шувалова К. П., Лахтин В. М., Давлетшина М. Л. // Уч. зап. Тартуского ун-та. Вып. 870. Изучение и применение лектинов. Т. 2. Тарту: Изд-во Тартуского ун-та, 1989. С. 62.
400. Нуцубидзе Нуг Н., Лахтин В. М., Демина В. А. и др. // Прикл. биохимия и микробиология. 1991. Т. 27. № 2. С. 274.
401. Klionsky D. J., Herman P. K., Emr S. D. // Microb. Rev. 1990. V. 54. № 3. P. 266.
402. Medda S., Das N., Bachhawat B. K. et al. // Biotechnol. Appl. Biochem. 1990. V. 12. № 5. P. 537.
403. Kawaguchi N., Ohmori T., Takeshita Y. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1986. V. 140. № 1. P. 350.
404. Harris R. J., Leonard C. K., Guzzetta A. W., Spellman M. W. // Biochemistry. 1991. V. 30. № 9. P. 2311.
405. Shibata S., Takeda T., Natori Y. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 25. P. 12483.
406. Луцкік М. Д., Панасюк Е. Н., Луцкік А. Д. Лектини. Львов: Вища шк., 1981. 156 с.

Институт биохимии им. А. Н. Баха АН СССР
Институт пищевых веществ АН СССР, Москва