

Использование метода Far Western гибридизации для определения рибосомных белков, взаимодействующих с фактором элонгации трансляции 1A

Т. В. Будкевич, Б. С. Негруцкий, А. В. Ельская

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

negrutskii@imbg.org.ua

Методом Far Western гибридизации определены белки 60S рибосомной субчастицы из печени кролика, взаимодействующие с гомологичным фактором элонгации трансляции eEF1A. Это фосфобелки P0.P1/P2, расположенные в районе А сайта 80S рибосомы. Показано, что eEF1A взаимодействует также с несколькими белками малой субчастицы 80S рибосом. Этот факт является весьма важным, поскольку ни один из белков малой субчастицы бактериальных рибосом не взаимодействует с фактором элонгации EF-Tu. Точная идентификация вышеупомянутых белков является предметом дальнейших исследований.

Ключевые слова: рибосомные белки, фактор элонгации 1A, эукариотная трансляция.

Введение. Систематические исследования про-кариотных рибосом на протяжении последних десятилетий привели к накоплению огромного массива знаний о структуре и функциях этих молекулярных машин. В частности, механизмы декодирования [1] и пептидилтрансферазной реакции [2–4] изучены для 70S рибосом вплоть до деталей на атомном уровне.

Что касается эукариотных 80S рибосом, то на сегодняшний день основные усилия направлены на изучение инициации трансляции – процесса гораздо более сложного, чем аналогичный этап биосинтеза белка в бактериях (уже найдено более 30 поли-

пептидов – участников эукариотной инициации вместо трех бактериальных факторов). В отличие от инициации общая схема цикла элонгации трансляции, по-видимому, довольно близка у про- и эукариотов. Существование трех сайтов связывания для тРНК было доказано для рибосом из *Escherichia coli* [5], дрожжей [6] и печени кролика [7]. Кроме того, аллостерическая связь между А и Е сайтами рибосом, открытая первоначально в бактериальной системе [5], обнаружена и у дрожжевых рибосом [6]. Следует заметить, что наши представления о структуре и функциях эукариотной рибосомы в основном базируются на экспериментальных данных о бактериальных и археирибосомах. Вместе с тем эукариотная рибосома на 50 % больше своего

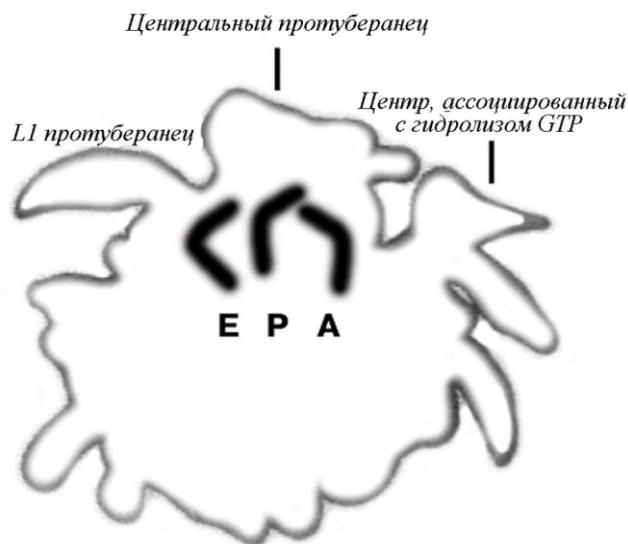


Рис. 1. Схема эукариотной 60S рибосомной субчастицы с обозначениями основных структурных элементов: L1 и центрального протуберанцев, центра, ассоциированного с гидролизом GTP, в состав которого входят фосфобелки P0.P1/P2, белок eL12 и сарцин-рициновая петля рРНК. На рисунке также обозначено местоположение трех тРНК-связывающих сайтов – А, Р и Е

бактериального аналога, содержит дополнительные белки и многочисленные вставки в последовательности рРНК. Уже первые результаты исследований структуры 80S рибосом методом криоэлектронной микроскопии [8] показывают, что конформационная динамика про- и эукариотных рибосом может различаться и конформационные изменения 80S рибосом в ходе элонгации трансляции более ярко выражены по сравнению с 70S рибосомами. В ходе изучения местоположения матрицы внутри рибосомы из плаценты человека, проведенного с использованием метода химических сшивок [9], обнаружено, что состав мРНК-содержащего канала отличается в рибосомах человека и бактерий (в первом случае мРНК-содержащий канал состоит из белков и рРНК, во втором – только из рРНК).

Наряду с функциями, связанными со сборкой рибосомы и трансляцией мРНК, многие рибосомные белки обладают так называемыми «внерибосомными» функциями. Находясь в свободном состоянии, т. е. вне рибосомы, они участвуют в раз-

личных клеточных процессах, например, в регуляции сплайсинга собственной пре-мРНК (L30 из *Saccharomyces cerevisiae*, S13 и S26 человека) [10] и развитии вирусной инфекции (белки L18 и L24 связываются с трансактиватором вируса мозаики цветной капусты – белком, контролирующим реинициацию трансляции на IRES полицистронной мРНК) [11].

Известно, что в опухолевых клетках изменен уровень экспрессии генов различных рибосомных белков. Например, в клетках рака толстой кишки значительно повышена экспрессия генов целого ряда рибосомных белков: S3, S6, S8, S12, S19, P0, L5, L18, L31 и L37, при раке печени – гена рибосомного белка P0, в опухолях лимфоидной ткани – S3a, S4, S17, L41, при раке предстательной железы – генов, кодирующих белки L7a и L37 [12]. Точные причины и клеточные механизмы, лежащие в основе повышения экспрессии генов рибосомных белков при канцерогенезе, не установлены.

Эукариотный фактор элонгации 1А (eEF1A) принадлежит к большому семейству GTP-связывающих белков, представители которого участвуют в регуляции ключевых клеточных процессов и отличаются высокой консервативностью первичных аминокислотных последовательностей [13]. eEF1A катализирует GTP-зависимое связывание аминоксил-тРНК (aa-тРНК) с акцепторным (А) сайтом рибосомы.

Тройной комплекс eEF1A*GTP*aa-тРНК связывается с рибосомой в районе центра, ассоциированного с гидролизом GTP (GTPase associated center), в состав которого входят пентамерный комплекс белков L10.L7/L12 (у эукариотов гомологами являются фосфорилированные белки P0.P1/P2), L11 (у эукариотов – eL12) и консервативная сарцин-рициновая петля рРНК [14] (рис. 1). Продуктивное кодон-антикодонное узнавание ускоряет гидролиз GTP молекулой eEF1A, а диссоциация eEF1A в GDP-связанной форме ведет к аккомодации тРНК в А сайте. При отсутствии структурных данных об эукариотном декодирующем комплексе представления о последовательности событий в ходе связывания aa-тРНК в составе тройного комплекса с eEF1A*GTP, а также о составе участников данного процесса весьма ограничены, поскольку

строятся только на аналогии с данными о декодирующем комплексе из *E. coli* [15]. Таким образом, недостаток информации об организации и функционировании эукариотного аппарата элонгации трансляции очевиден.

В связи с тем, что получение информации о структурной организации 80S рибосом из высших эукариотов пока является сложнейшей экспериментальной задачей, центральную роль в изучении эукариотных рибосом играют биохимические методы исследований. С их помощью накапливается тот массив данных, который впоследствии поможет интерпретировать результаты, наработанные структурными методами. Цель данной работы состояла в идентификации белков эукариотных рибосом, способных взаимодействовать с гомологичным фактором элонгации трансляции eEF1A. Для этого использован метод Far Western гибридизации. По данным этого метода, основные белки 60S субчастицы рибосом, взаимодействующие с eEF1A, – это фосфобелки P0.P1/P2, входящие в состав центра, ассоциированного с гидролизом GTP. Кроме того, наши данные свидетельствуют о том, что четыре белка малой субчастицы также могут взаимодействовать с eEF1A.

Дальнейшая идентификация белков 40S субчастицы с помощью масс-спектрального анализа, возможно, позволит выявить роль данных взаимодействий в процессе трансляции или других клеточных процессах, в которых участвуют как фактор элонгации 1A [16], так и рибосомные белки.

Материалы и методы. *Выделение рибосомных частиц и фактора элонгации 1A.* Для выделения препаратов рибосомных субчастиц 60S и 40S использовали печень взрослых кроликов. В основу методики получения свободных от эндогенных тРНК и мРНК рибосомных субчастиц положена схема [17] с некоторыми модификациями. В частности, для удаления эндогенных РНКаз из препарата полисом на ранней стадии очистки постмитохондриальный супернатант центрифугировали сквозь 1 М сахарозную подушку, содержащую 0,5 М KCl. Концентрацию субчастиц определяли на основании следующих соотношений: 60 пмоль/1 о. е. A₂₆₀ для 40S и 30 пмоль/1 о. е. A₂₆₀ для 60S субчастиц. Препарат фактора элонгации 1A получали,

комбинируя гель-фильтрацию и ионообменную хроматографию, как описано нами ранее [18]. Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда [19].

Far Western гибридизация. Метод базируется на способности белков-партнеров взаимодействовать на поверхности нитроцеллюлозной мембраны [20]. После электрофореза в денатурирующих условиях гель инкубировали в ренатурирующем буфере (50 мМ трис-HCl, pH 7,4, 20 %-й глицерин) в течение 1 ч при комнатной температуре для удаления SDS и, как следствие, частичной ренатурации рибосомных белков [21]. Электроперенос белков из геля на нитроцеллюлозную мембрану проводили в карбонатном буфере (10 мМ NaHCO₃, 7 мМ Na₂CO₃, pH 9,9, 20 %-й метанол) при 30–40 Вт в холодной комнате (4 °C) в течение ночи. Контроль переноса осуществляли окрашиванием Кумасси и Ponceau S для гелевой пластины и мембраны соответственно. Следующим этапом была инкубация мембраны с eEF1A в концентрации 25–50 нМ в буфере PBS (1,7 мМ KH₂PO₄, 5,2 мМ Na₂HPO₄, 150 мМ NaCl), 3 % BSA или 5 % сухого молока, 15–20 % глицерина при комнатной температуре на протяжении 1 ч при постоянном перемешивании. Использование высокой ионной силы буферного раствора позволило избежать возможных неспецифичных электростатических белковых контактов на мембране. Белки, способные взаимодействовать с фактором элонгации, определяли при помощи моноклональных анти-eEF1A антител (Upstate Group, Inc.) (разведение 1:1000).

Для проведения повторной гибридизации с антителами против С-концевого домена дрожжевых рибосомных белков P0.P1/P2 (любезно предоставлены проф. Х. Баллестой, Испания) мембрану предварительно очищали от связанных ранее антител, инкубируя в течение 30 мин при температуре 60 °C в буфере (2 %-й SDS, 100 мМ -меркаптоэтанол, 62,5 мМ трис-HCl, pH 6,8). Затем ее обрабатывали первичными анти-P0.P1/P2 антителами (разведение 1:3) и проявляли с использованием вторичных конъюгированных с пероксидазой хрена анти-мышинных антител (разведение 1:2000).

Результаты и обсуждение. *Определение белков 60S рибосомной субчастицы, способных взаимо-*

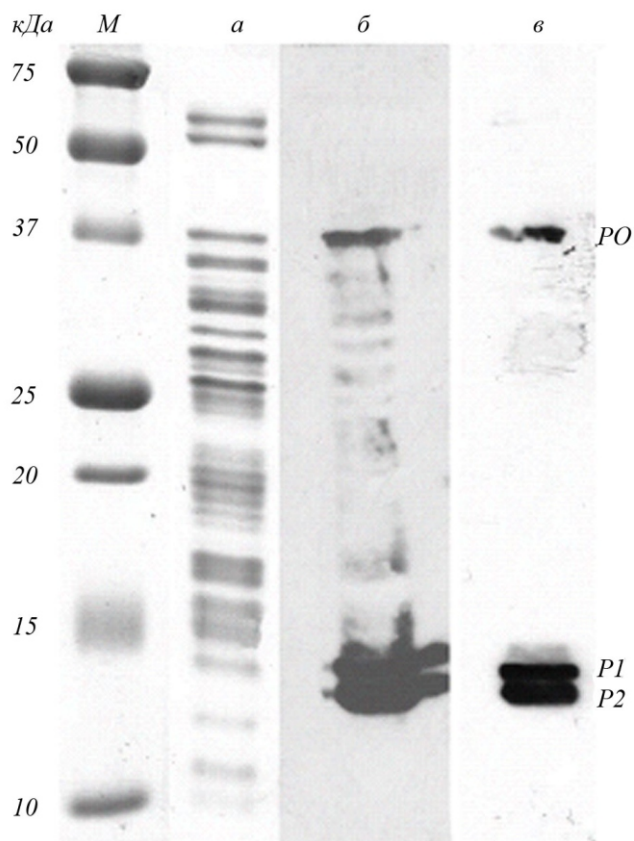


Рис. 2. Анализ белков большой субчастицы, взаимодействующих с фактором элонгации 1A из печени кролика: *а* – окраска по Кумасси; *б* – Far Western гибридизация (проявка антителами против eEF1A); *в* – Western блот с применением антител против фосфо-белков P0.P1/P2

действовать с eEF1A. Как отмечено выше, методика Far Western гибридизации основана на наблюдении, что белки-партнеры могут взаимодействовать друг с другом на поверхности нитроцеллюзной мембраны после электрофореза смеси белков в денатурирующих условиях, ренатурации белков в геле и электропереноса (см. «Материалы и методы»). В связи с этим был проведен SDS-ПААГ электрофорез белков 60S рибосомной субчастицы (рис. 2, *а*). Затем белки частично ренатурировали и перенесли на мембрану, инкубированную с раствором eEF1A, чтобы дать возможность этому белку сформировать комплекс с рибосомными белками. Далее мембрану тщательно отмывали от несвязавшегося eEF1A. Молекулы eEF1A, образовавшие комплексы с рибосомными белками и потому оставшиеся на мембране, локализовали с помощью анти-eEF1A

антител. Четкий позитивный сигнал получен для трех белков (рис. 2, *б*). На основании литературных данных можно предположить, что основными кандидатами на роль белков-партнеров для eEF1A являются белки комплекса P0.P1/P2 – эукариотные гомологи прокариотных белков L10.L7/L12, входящих в состав центра, ассоциированного с гидролизом GTP на 50S субчастице. Именно в районе этого центра происходит связывание тройного комплекса с рибосомой при декодировании [15].

Серия работ группы Тошио Учиуми [14, 22] по реконструкции *in vitro* части центра, ассоциированного с гидролизом GTP, на бактериальной рибосоме показала, что замена бактериального L7/L12 стебля на гомологичную структуру из печени крысы приводит к потере химерными 70S рибосомами способности узнавать прокариотные EF-Tu (бактериальный гомолог eEF1A) и EF-G (бактериальный гомолог eEF2), а их GTPазная и трансляционная активности были сопоставимы с активностью нативных эукариотных 80S рибосом [22].

Данные метода химических сшивок [23], а также непосредственная визуализация бактериального декодирующего комплекса методом криоэлектронной микроскопии [15] свидетельствуют о том, что белки L10 и L7/L12 являются основными и, скорее всего, единственными белками большой субчастицы, которые взаимодействуют с фактором EF-Tu. Что касается эукариотного eEF1A, то метод поперечных сшивок, примененный для эукариотной системы рибосома–фактор, не дал такого однозначного результата, как в случае с EF-Tu [24]. Авторы идентифицировали три белка 60S субчастицы (L12, L23 и L39) как взаимодействующие с eEF1A. Однако следует отметить, что все эти белки расположены на внутренней стороне большой субчастицы, обращенной к малой субчастице, что должно создавать значительные стерические препятствия для взаимодействия с eEF1A.

Таким образом, достоверность полученных результатов вызывает некоторые сомнения. Трудно понять, почему аналогичный метод с использованием одного и того же бифункционального сшивающего агента 2-иминотиолана в случае с 70S рибосомами и EF-Tu дал однозначный результат, согласующийся с данными, полученными другими

методами [23], тогда как в случае с 80S/eEF1A опубликованный вывод [24], скорее всего, является артефактом. Не исключено, что один и тот же сшивающий агент нельзя было использовать для про- и эукариотных рибосом вследствие различной природы доступных для сшивок поверхностей 70S и 80S рибосом и факторов элонгации.

Существовала определенная вероятность того, что обнаруженные нами белки – партнеры eEF1A на большой субъединице эукариотных рибосом (рис. 2, б) могут быть аналогами прокариотных рибосомных белков L10.L7/L12, взаимодействующих с фактором EF-Tu. Эукариотными аналогами этих белков являются кислые фосфорилированные белки P0.P1/P2. Важно, что молекулярные массы обнаруженных нами белков – партнеров eEF1A соответствуют массам этих белков (34, 12 и 11 кДа). Известно, что С-концевой домен указанных трех белков высококонсервативен и с помощью антител против этого домена можно идентифицировать все три белка. Использование таких антител в Вестерн-блот-гибридизации подтвердило, что полученный нами сигнал действительно относится к белкам P0.P1/P2 (рис. 2, в). Для идентификации eEF1A и P0.P1/P2 применена одна и та же нитроцеллюлозная мембрана, что убедительно доказывает факт взаимодействия одних и тех же белков как с антителами против eEF1A, так и (после удаления этих антител) с антителами против P0.P1/P2.

Итак, установлена возможность непосредственного контакта между рибосомными белками P0.P1/P2 большой субчастицы 80S рибосом с eEF1A. Поскольку белки P0.P1/P2 и L10.L7/L12 являются функциональными аналогами, описанное в данной работе взаимодействие свидетельствует о консерватизме процесса декодирования в про- и эукариотных организмах.

Обращает на себя внимание также присутствие на мембране нескольких минорных сигналов, что может предполагать наличие дополнительных сайтов связывания eEF1A на 80S рибосоме, например, в районе E сайта [16].

Определение белков 40S рибосомной субчастицы, способных взаимодействовать с eEF1A. Процедуру, аналогичную вышеприведенной, использовали также для определения белков малой субчас-

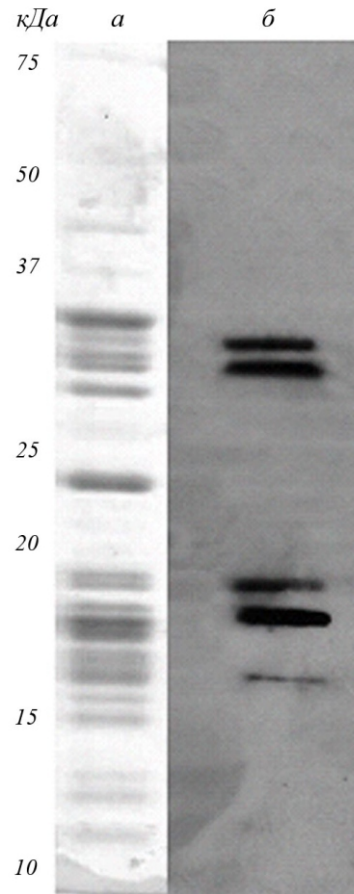


Рис. 3. Анализ белков малой субчастицы, взаимодействующих с фактором элонгации 1A из печени кролика: а – окраска по Ку-масси; б – Far Western гибридизация (проявка антителами против eEF1A)

тицы, контактирующих с фактором элонгации 1A (рис. 3). Для бактериальных рибосом таких белков не найдено. В отношении эукариотных рибосом, уже упомянутая работа [24] с применением бифункционального сшивающего агента 2-иминотиолана в качестве партнеров eEF1A предлагает белки S23/S24, а также S26. Однако, как указано выше, нельзя исключить, что данные взаимодействия являются артефактами процедуры химических сшивок в эукариотной системе. Кроме того, обнаружено, что eEF1A, связываясь с малой субчастицей, может выступать в роли фактора ассоциации дрожжевых рибосом [25]. К сожалению, не было представлено данных о том, где именно находится сайт связывания eEF1A на поверхности 40S субчастиц и какие рибосомные белки могут участвовать в этом взаимодействии.

С помощью методики Far Western гибридизации нами показано взаимодействие eEF1A с четырьмя белками малой субчастицы рибосом (рис. 3). Молекулярная масса этих белков находится в диапазоне 37–25 и 20–15 кДа. Поскольку белки – партнеры EF-Tu на малой субчастице бактериальной рибосомы неизвестны и, более того, весьма вероятно, что контакты EF-Tu с 30S субчастицей вообще отсутствуют, то метод аналогий, использованный для идентификации белков большой субчастицы, невозможно применить в данном случае. В дальнейших исследованиях мы планируем определить обнаруженные нами белки с помощью масс-спектрометрических исследований. Можно предположить, что наблюдаемые взаимодействия фактора элонгации 1A с белками 40S субчастицы отражают способность этих белков формировать комплексы при выполнении функций, не связанных непосредственно с белковым синтезом.

T. V. Budkevich, B. S. Negrutskii, A. V. El'skaya

Far Western blot as a tool for identification of interaction between ribosomal proteins and translation elongation factor 1A

Summary

We have used Far Western blot technique to determine several proteins from 60S ribosomal subunit from rabbit liver which are capable of interacting with homologous translation elongation factor 1A. They belong to phosphoprotein P0.P1/P2 complex situated near A site region of 80S ribosome. It was also shown that eEF1A interacts with several proteins of small subunit of 80S ribosomes. It is important since none of 30S subunit proteins binds elongation factor EF-Tu. Identification of the above-mentioned proteins is the aim of future investigations.

Key words: ribosomal proteins, elongation factor 1A, eukaryotic translation.

T. V. Будкевич, Б. С. Негруцький, А. В. Єльська

Використання методу Far Western гібридизації для визначення рибосомних білків, які взаємодіють з фактором елонгації трансляції 1A

Резюме

Методом Far Western гібридизації визначено білки 60S рибосомної субчастинки з печінки кроля, які взаємодіють з гомологічним фактором елонгації трансляції eEF1A. Це фосфобілки P0.P1/P2, розташовані неподалік А сайту 80S рибосоми. Показано, що eEF1A взаємодіє також з декількома білками малої субчастинки 80S рибосом. Цей факт є дуже важливим, оскільки жоден з білків малої субчастинки бактеріальних рибосом не взаємодіє з фактором елонгації EF-Tu. Точна ідентифікація вищезгаданих білків є метою подальших досліджень.

Ключові слова: рибосомні білки, фактор елонгації 1A, еукаріотна трансляція.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Ogle J. M., Brodersen D. E., Clemons W. M., Jr., Tarry M. J., Carter A. P., Ramakrishnan V. Recognition of cognate transfer RNA by the 30S ribosomal subunit // Science.–2001.–**292**.–P. 897–902.
- Schmeing T. M., Huang K. S., Kitchen D. E., Strobel S. A., Steitz T. A. Structural insights into the roles of water and the 2' hydroxyl of the P site tRNA in the peptidyl transferase reaction // Mol. Cell.–2005.–**20**.–P. 437–448.
- Trobro S., Aqvist J. Mechanism of peptide bond synthesis on the ribosome // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.–2005.–**102**.–P. 12395–12400.
- Erlacher M. D., Land K., Wotzel B., Rieder R., Micura R., Polacek N. Efficient ribosomal peptidyl transfer critically relies on the presence of the ribose 2'-OH at A2451 of 23S rRNA // J. Amer. Chem. Soc.–2006.–**128**.–P. 4453–4459.
- Hausner T. P., Geigenmuller U., Nierhaus K. H. The allosteric three-site model for the ribosomal elongation cycle. New insights into the inhibition mechanisms of aminoglycosides, thiostrepton, and viomycin // J. Biol. Chem.–1988.–**263**.–P. 13103–13111.
- Triana F., Nierhaus K. H., Chakraborty K. Transfer RNA binding to 80S ribosome from yeast: evidence for three sites // Biochem. Mol. Biol. Int.–1994.–**33**.–P. 909–915.
- El'skaya A. V., Ovcharenko G. V., Palchevskij S. S., Petrushenko Z. M., Triana-Alonso F. J., Nierhaus K. H. Three tRNA binding sites in rabbit liver ribosomes and role of the intrinsic ATPase in 80S ribosome from higher eukaryotes // Biochemistry.–1997.–**36**.–P. 10492–10497.
- Spahn C. M., Gomez-Lorenzo M. G., Grassucci R. A., Jorgensen R., Andersen G. R., Beckmann R., Penczek P. A., Ballesta J. P., Frank J. Domain movements of elongation factor eEF2 and the eukaryotic 80S ribosome facilitate tRNA translocation // EMBO J.–2004.–**23**.–P. 1008–1019.
- Graifer D. M., Karpova G. G., Knorre D. G. Location of template on the human ribosome as revealed from data on cross-linking with reactive mRNA analogs // Biochemistry (Mosc).–2001.–**66**.–P. 585–602.
- Иванов А. В., Малыгин А. А., Карпова Г. Г. Рибосомні белки еукаріот: взаємодія з власними пре-мРНК і участь в регуляції сплайсинга // Молекуляр. біологія.–2006.–**40**.–С. 640–649.
- Park H. S., Himmelbach A., Browning K. S., Hohn T., Ryabova L. A. A plant viral «reinitiation» factor interacts with the host translational machinery // Cell.–2001.–**106**.–P. 723–733.
- Vaarala M. H., Porvari K. S., Kyllonen A., Mustonen M. V., Lukkariinen O., Vihko P. T. Several genes encoding ribosomal proteins are over-expressed in prostate-cancer cell lines: conformation of L7a and L37 over-expression in prostate-cancer tissue samples // Int. J. Cancer.–1998.–**78**.–P. 27–32.
- Bourne H. R., Sanders D. A., McCormick F. The GTPase superfamily: conserved structure and molecular mechanism // Nature.–1991.–**349**.–P. 117–127.
- Hagiya A., Naganuma T., Maki Y., Ohta J., Tohkairin Y., Shimizu T., Nomura T., Hachimori A., Uchiyama T. A mode of assembly of P0, P1, and P2 proteins at the GTPase-associated center in animal ribosome: in vitro analyses with P0 truncation mutants // J. Biol. Chem.–2005.–**280**.–P. 39193–39199.
- Valle M., Zavialov A., Li W., Stagg S. M., Sengupta J., Nielsen R. C., Nissen P., Harvey S. C., Ehrenberg M., Frank

- J.* Incorporation of aminoacyl-tRNA into the ribosome as seen by cryo-electronmicroscopy // *Nat. Struct. Biol.*–2003.–**10**.–P. 899–906.
16. *Negrutskii B. S., El'skaya A. V.* Eukaryotic translation elongation factor 1 : expression, functions, and possible role in aminoacyl-tRNA channelling // *Progr. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.*–1998.–**60**.–P. 47–78.
 17. *Bommer U., Burkhardt N., Jünemann R., Spahn C. M. T., Triano-Alonso F. J., Nierhaus K. H.* Ribosomes and polysomes // *Subcellular Fractionation. A practical approach* / Eds J. Graham, D. Rickwoods.– Oxford: IRL Press at Oxford Univ, 1996.–P. 271–301.
 18. *Shalak V. F., Budkevich T. V., Negrutskii B. S., El'skaya A. V.* A fast and effective method for purification of elongation factor 1 alpha from rabbit liver // *Ukr. Biokhim. Zh.*–1997.–**69**.–P. 104–109.
 19. *Bradford M. M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.*–1976.–**72**.–P. 248–254.
 20. *Hall R. A.* Studying protein-protein interactions via blot overlay or far western blot // *Meth. Mol. Biol.*–2004.–**261**.–P. 167–174.
 21. *Dunn S. D.* Effects of the modification of transfer buffer composition and the renaturation of proteins in gels on the recognition of proteins on western blots by monoclonal antibodies // *Anal. Biochem.*–1986.–**157**.–P. 144–153.
 22. *Uchiumi T., Honma S., Endo Y., Hachimori A.* Ribosomal proteins at the stalk region modulate functional rRNA structures in the GTAase center // *J. Biol. Chem.*–2002.–**277**.–P. 41401–41409.
 23. *Naq B., Johnson A. E., Traut R. R.* Identification of the elongation factor Tu binding site on 70S *E. coli* ribosomes by chemical cross-linking // *Ind. J. Biochem. and Biophys.*–1995.–**32**.–P. 343–350.
 24. *Uchiumi T., Ogata K.* Cross-linking study on localization of the binding site for elongation factor 1 on rat liver ribosomes // *J. Biol. Chem.*–1986.–**261**.–P. 9668–9671.
 25. *Herrera F., Correia H., Triana L., Fraile G.* Association of ribosomal subunits. A new functional role for yeast EF-16 in protein biosynthesis // *Eur. J. Biochem.*–1991.–**200**.–P. 321–327.

УДК 576.311.33:57.083.34
Надійшла до редакції 01.02.07