

Видалення частини GTP-зв'язувального домену еукаріотного фактора елонгації трансляції 1A призводить до індукції трансляційних помилок *in vitro*

А. П. Погрібна, Б. С. Негруцький, Г. В. Єльська

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна
pogr@ukr.net

*Еукаріотний фактор елонгації трансляції 1A (eEF1A) є одним із головних компонентів апарату білкового синтезу, які діють на стадії елонгації. Онкоген PTI-1, експресію якого виявлено при раку передміхурової залози людини, кодує білок — гомолог eEF1A. Перевірено гіпотезу стосовно того, що білковий продукт гена PTI-1 впливає на точність трансляції. Продемонстровано здатність аналога PTI-1 стимулювати помилкове включення лейцину рибосомами, програмованими полі(U)-матрицею, що підтверджує можливість продукту гена PTI-1 впливати на точність трансляції *in vivo*.*

Ключові слова: еукаріотний фактор елонгації трансляції 1A, онкоген PTI-1, рибосома, тРНК.

Вступ. Еукаріотний фактор елонгації трансляції 1A (eEF1A) — це гуаніну-нуклеотид-зв'язувальний білок, який бере участь у забезпеченні коректного впізнавання кодону мРНК антикодоном тРНК на рибосомі. Окрім своєї основної ролі в трансляції, eEF1A може бути залучений і до інших клітинних процесів, таких як передача сигналів [1], організація цитоскелету [2, 3], а також до процесів апоптозу [4], канцерогенезу [5, 6], вірусної інфекції [7], діабету [8, 9].

Останнім часом з'являється все більше даних щодо участі eEF1A у процесі канцерогенезу. Зокрема, зв'язок eEF1A з онкогенезом виявлено при дослідженні карциноми простати людини [10]. У пухлинних тканинах знайдено домінуючий онкоген, який було названо PTI-1 («prostate tumor

inducing-gene 1»). Показано, що ген PTI-1 містить у 5'-некодуючій ділянці послідовність з 630 пар нуклеотидних основ (п. н.), яка на 87 % ідентична послідовності 23S рибосомної РНК *Mycoplasma hyopneumoniae*. Цікаво, що кодуєча послідовність цього гена на 99,25 % ідентична послідовності вкороченого з N-кінця на 67 амінокислотних залишків (а. з.) білка eEF1A з трьома доданими а. з. на N-кінці (рис. 1) [11]. Таким чином, онкоген PTI-1 може кодувати білок з 398 а. з., який є гомологом eEF1A. Оскільки відсутня у PTI-1 порівняно з eEF1A послідовність є частиною GTP-зв'язувального сайту фактора трансляції, логічно припустити, що така модифікація може призводити до змін у функціонуванні білка PTI-1 на відміну від eEF1A.

Зважаючи на вищезазначене, було зроблено припущення, що PTI-1 представляє новий клас онкогенів, чий трансформувальні властивості опосе-

eEF1A1	1	MGKEKTHINI	VVIGHVDSGK	STTTGHLIYK	CGGIDKRTIE	KFEKEAAEMG
ΔeEF1A1	
PTI-1	
eEF1A1	51	KGSFKYAWVL	DKLKAERERG	ITIDISLWKF	ETTKYYITII	DAPGHRDFIK
ΔeEF1A1	1G	ITIDISLWKF	ETTKYYITII	DAPGHRDFIK
PTI-1	1MQSERG	ITIDISLWKF	ETTKYYITII	DAPGHRDFIK
eEF1A1	101	NMITGTSQAD	CAVLIVAAGV	GEFEAGISK	GNQTREHALLA	YTLGVKQLIV
ΔeEF1A1	32	NMITGTSQAD	CAVLIVAAGV	GEFEAGISK	GNQTREHALLA	YTLGVKQLIV
PTI-1	37	NMITGTSQAD	CAVLIVAAGV	GEFEAGISK	GNQTREHALLA	YTLGVKQLIV
eEF1A1	151	GVNKMDSTEP	AYSEKRYDEI	VKEVSAYIKK	IGYNPATVPF	VPISGWHGDN
ΔeEF1A1	82	GVNKMDSTEP	AYSEKRYDEI	VKEVSAYIKK	IGYNPATVPF	VPISGWHGDN
PTI-1	87	GVNKMDSTEP	AYSEKRYDEI	VKEVSAYIKK	IGYNPATVPF	VPISGWHGDN
eEF1A1	201	MLEPSPNMPW	FKGWKVERKE	GNASGVSLLE	ALDTILPPTR	PTDKPLRLPL
ΔeEF1A1	132	MLEPSPNMPW	FKGWKVERKE	GNASGVSLLE	ALDTILPPTR	PTDKPLRLPL
PTI-1	137	MLEPSPNMPW	FKGWKVERKE	GNASGVSLLE	ALDTILPPTR	PTDKPLRLPL
eEF1A1	251	QDVYKIGGIG	TVPVGRVETG	ILRPGMVVTF	APVNITTEVK	SVEMHHEALS
ΔeEF1A1	182	QDVYKIGGIG	TVPVGRVETG	ILRPGMVVTF	APVNITTEVK	SVEMHHEALS
PTI-1	187	QDVYKIGGIG	TVPVGRVETG	ILRPGMVVTF	APVNITTEVK	SVEMHHEALS
eEF1A1	301	EALPGDNVGF	NVKNVSVKDI	RRGNVCGDSK	SDPPQEAAQF	TSQVIIILNHP
ΔeEF1A1	232	EALPGDNVGF	NVKNVSVKDI	RRGNVCGDSK	SDPPQEAAQF	TSQVIIILNHP
PTI-1	237	EALPGDNVGF	NVKNVSVKDI	RRGNVCGDSK	SDPPQEAAQF	TSQVIIILNHP
eEF1A1	351	GQISAGYSPV	IDCHTAHIAC	KFAELKEKID	RRSGKKLEDN	PKSLKSGDAA
ΔeEF1A1	282	GQISAGYSPV	IDCHTAHIAC	KFAELKEKID	RRSGKKLEDN	PKSLKSGDAA
PTI-1	287	GQISAGYSPV	IDCHTAHIAC	KFAELKEKID	RRSGKKLEDN	PKSLKSGDAA
eEF1A1	401	IVEMVPGKPM	CVESFSQYPP	LGRFAVRDMR	GTVAVGVIKN	VEKKSGGAGK
ΔeEF1A1	332	IVEMVPGKPM	CVESFSQYPP	LGRFAVRDMR	GTVAVGVIKN	VEKKSGGAGK
PTI-1	337	IVEMVPGKPM	CVESFSQYPP	LGRFAVRDMR	GTVAVGVIKN	VEKKSGGAGK
eEF1A1	451	VTKSAQKAQK	AGK			
ΔeEF1A1	382	VTKSAQKAQK	AGK			
PTI-1	387	VTKSAQKAQK	AGK			

Рис. 1. Схема порівняння амінокислотних послідовностей для нативного eEF1A1 з печінки кроля, модифікованого трипсином eEF1A1 з печінки кроля та білкового продукту онкогену PTI-1, вилученої з нуклеотидної послідовності мРНК гена PTI-1

редкуюються такими можливими механізмами: 1) дію на точність трансляції, в результаті чого синтезуються неправильні поліпептиди, зокрема, регуляторні, що, в свою чергу, позначається на пухлиноутворенні [12]; 2) вплив на білки цитоскелету завдяки змінам відомої здатності eEF1A взаємодіяти з актином і тубуліном; 3) зміни одного чи

декількох різних шляхів передачі сигналу, зумовлені властивостями PTI-1 як G білка [13].

Відомо, що мутації в eEF1A можуть прямо впливати на зсув рамки зчитування та частоту включення помилкових амінокислот у *Saccharomyces cerevisiae*. Наприклад, заміна лише однієї амінокислоти в послідовності eEF1A змінює рівень

селективності та правильної кодон-антикодонової взаємодії аміноацил-тРНК у процесі трансляції [14]. Таким чином, поява в пухлинних клітинах гомолога eEF1A, який кодується геном PTI-1, є цілком вірогідною причиною зниження точності трансляції. Завданням цієї роботи було перевірити принципову можливість дії білка — аналога PTI-1 на точність трансляції, зокрема, дослідити, чи здатний він підсилювати помилкове включення лейцину рибосомами, програмованими полі(U)-матрицею.

Матеріали і методи. Препарати факторів трансляції eEF1A і eEF2 з печінки кроля отримували за методикою, описаною в попередній роботі [15]. Препарати рибосомних субчастинок з печінки кроля та сумарної тРНК з печінки бика одержано за методом [16].

Обмежений трипсиноліз eEF1A з печінки кроля здійснювали, як описано раніше [15].

Реакцію аміноацилювання сумарної тРНК з печінки бика проводили в буфері: 30 мМ імідазол, рН 7,5 («Sigma», США), 5 мМ MgCl₂, 100 мМ KCl, 3 мМ дитіотреїтол («Amersham», Швеція), 3 мМ АТР, рН 7,0, 40 мкМ [¹⁴C]Phe («Amersham»), 120 мкг сумарної тРНК з печінки бика та 200 мкг сумарного препарату аміноацил-тРНК синтезав, очищених з печінки кроля. Реакцію аміноацилювання проводили протягом 15 хв за температури 37 °С з подальшим охолодженням на льодяній бані. Аліквоти цієї суміші слугували джерелом аміноацил-тРНК у системі трансляції полі(U).

Включення [¹⁴C]фенілаланіну до продукту трансляції полі(U) проводили за температури 37 °С в буфері: 50 мМ HEPES, рН 7,6 («Fluka», Чехія), 8 мМ MgCl₂, 70 мМ KCl, 10 %-й гліцерин, 1 мМ АТР, рН 7,0 («Sigma»), 0,4 мМ GTP, рН 7,5, 40 мкг/мл креатинфосфаткінази («Serva»), 10 мМ креатинфосфат («Serva»), 10 мкг/пробу полі(U) («Sigma»). Трансляційна суміш об'ємом 100 мкл містила також 15 пмоль 40S та 25 пмоль 60S субчастинок рибосом, 60 пмоль eEF2, різні кількості eEF1A або ΔeEF1A, а також 50 мкл суміші для аміноацилювання, яка вміщувала 120 мкг сумарної тРНК, аміноацильованої [¹⁴C]Phe. Реакцію зупиняли додаванням 2 мл охолодженої 10 %-ї ТХО. Після цього реакційну суміш прогрівали (10 хв, 90 °С) для руйнування аміноацил-тРНК і знову охолоджували на льодяній бані. Осади наносили на GF/C фільтри («Whatman», США) та промивали 30 мл холодної 3 %-ї ТХО.

Помилкове включення лейцину до продукту трансляції полі(U) вивчали в тому ж буфері, що і включення фенілаланіну, за винятком того, що концентрацію MgCl₂ було підвищено до 13 мМ.

Вміст радіоактивності сухих фільтрів визначали в толуоловому сцинтиляторі «Optiphase» на лічильнику RackBeta 1219 фірми «LKB» (Швеція). Ефективність підрахунку [¹⁴C] на фільтрах складала 71 %, [³H] — 26 %.

Результати і обговорення. Оскільки продукт обмеженого трипсинолізу eEF1A та гіпотетичний продукт онкогену PTI-1 є на 99 % ідентичними (рис. 1), як модель білка PTI-1 використовували модифікований трипсином eEF1A.

Раніше нами встановлено, що ΔeEF1A, незважаючи на відсутність однієї третини GTP/GDP-зв'язувального домену, зберігав, хоча й неповністю, функціональну активність у зв'язуванні GTP, GDP і тРНК, а також у певній мірі міг підтримувати трансляцію полі(U) в безклітинній системі трансляції, отриманої з окремих компонентів [15]. Завдання цієї роботи полягало у визначенні, чи впливає присутність аналога білка PTI-1 у безклітинній системі білкового синтезу на здатність згаданої системи помилково використовувати лейцин замість фенілаланіну під час трансляції полі(U).

На відміну від наших попередніх досліджень [15], у яких для характеристики трансляційної активності ΔeEF1A використано препарат індивідуальної фенілаланінової тРНК дріжджів, у цій роботі застосовано препарат сумарної тРНК з печінки бика, оскільки такий препарат містив і тРНК^{Phe}, і тРНК^{Leu}, що є необхідною умовою для вивчення помилок трансляції у системі трансляції полі(U).

Було визначено оптимальну концентрацію eEF1A або ΔeEF1A для трансляції полі(U) (рис. 2). Важливо, що як при використанні дріжджової тРНК, так і в разі тРНК з печінки бика навіть додавання надлишкових кількостей ΔeEF1A не дозволяло підвищити активність безклітинної системи трансляції до рівня, який спостерігався за присутності нативного eEF1A, тобто відщеплення майже третини GTP-зв'язувального домену eEF1A призводило до часткової втрати активності eEF1A при визначенні кінетики в реакції трансляції.

Також вивчали кінетику трансляції полі(U) за участі eEF1A або ΔeEF1A (рис. 3) при використанні аміноацильованої [¹⁴C]Phe сумарної тРНК. Швидкість включення [¹⁴C]фенілаланіну в ТХО-

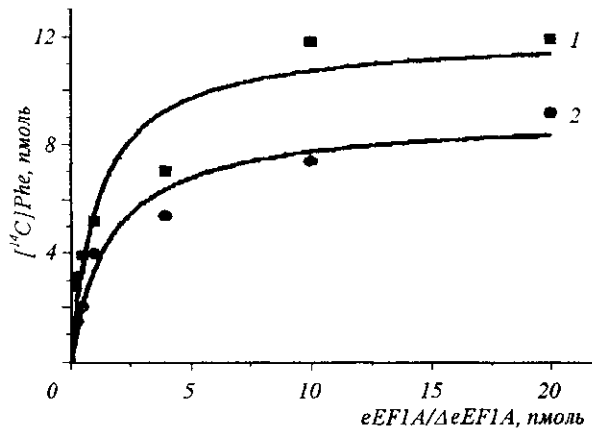


Рис. 2. Синтез поліфенілаланіну при 8 мМ MgCl₂ в безклітинній системі трансляції з використанням різних концентрацій eEF1A (1) і ΔeEF1A (2) за 35 хв проходження реакції

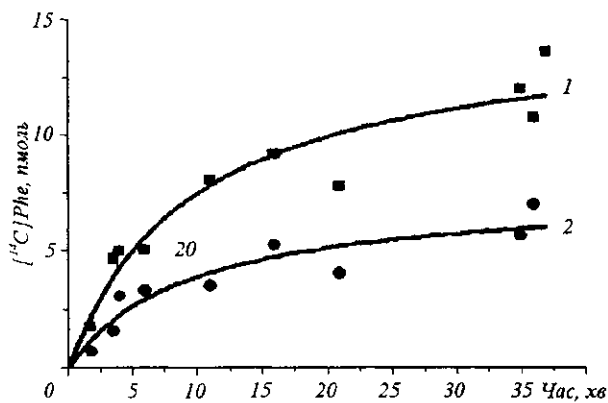


Рис. 3. Кінетика синтезу поліфенілаланіну в безклітинній системі трансляції за участі eEF1A (1) або ΔeEF1A (2) (14 пмоль/пробу) при 8 мМ концентрації MgCl₂

нерозчинний осад за присутності eEF1A складала ~1,12 пмоль Phe/хв, а за присутності ΔeEF1A — ~0,61 пмоль Phe/хв при 8 мМ концентрації іонів магнію в реакційній суміші.

Оскільки відомо, що індукція помилкового включення лейцину в продукт трансляції полі(U) у безклітинних білоксинтезувальних системах з *Escherichia coli* [17] і зародків пшениці відбувається за умов підвищення концентрації іонів магнію [18] та зважаючи на те, що оптимальна концентрація MgCl₂ для вивчення помилок трансляції в умовах використаної нами білоксинтезувальної системи з вищих еукаріотів залишалася невизначеною, ми дослідили вплив різних концентрацій іонів магнію на включення фенілаланіну і лейцину в продукт трансляції полі(U) (рис. 4). Найвищий рівень помилкового включення лейцину під час трансляції

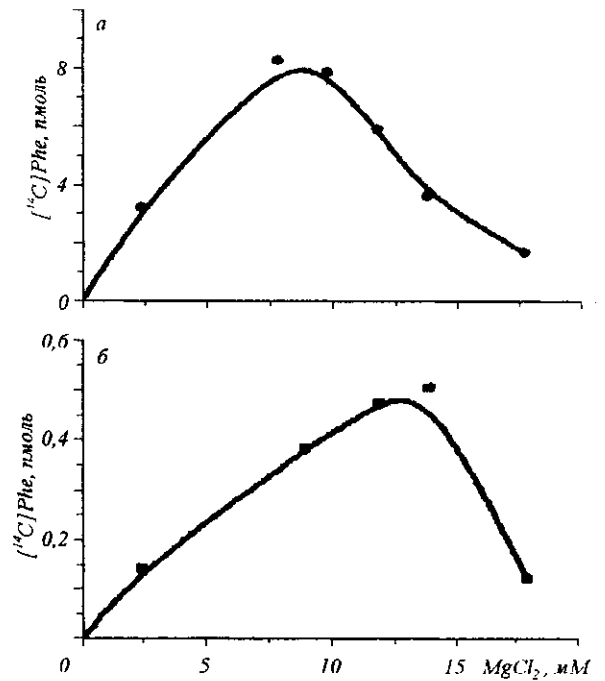


Рис. 4. Залежність включення [14C]Phe (а) і [3H]Leu (б) у ТХО-нерозчинний осад від концентрації MgCl₂ у присутності повнорозмірного eEF1A

полі(U)-матриці в даній системі спостерігали при концентраціях MgCl₂ від 12 до 14 мМ.

Показник «помилковості трансляції» визначали як співвідношення кількості помилково включеного лейцину до кількості включеного фенілаланіну у продукті трансляції полі(U). Включення амінокислот у ТХО-нерозчинному продукті вивчали на початковій швидкості трансляції полі(U) 80S рибосомами. Інкубація протягом 4 хв повністю відповідала умовам початкової швидкості і дозволяла отримати достатнє для надійного вимірювання значення радіоактивності ТХО-осаду. Результати експериментів наведено в таблиці. Видно, що заміна eEF1A на ΔeEF1A в системі трансляції призводить до збільшення показника помилковості трансляції майже в 6 разів.

Таким чином, отримані дані свідчать на користь гіпотези щодо можливості індукції помилок трансляції за присутності білкового продукту гена РТІ-1. Не виключено, що такий механізм пояснює відоме підвищення помилковості трансляції під час онкогенезу [19].

Як згадувалося вище, у білку РТІ-1 відсутні перші 67 а. з. у порівнянні з eEF1A. Яким чином це може впливати на помилковість трансляції? На

Помилковість трансляції за присутності eEF1A або ΔeEF1A

Фактор	Початкова швидкість включення { ¹⁴ C}Phe, пмоль/хв	Початкова швидкість помилкового включення { ³ H}Leu, пмоль/хв	Показник помилок трансляції (³ H)Leu/{ ¹⁴ C}Phe
eEF1A	1,12	0,11	0,1
ΔeEF1A	0,61	0,35	0,57

прикладі мутагенезу дріжджового eEF1A показано залучення до контролю точності трансляції амінокислотних залишків Asn153 і Asp156 [20], а також залишків Glu122 і Thr142 [21]. Цікаво, що згідно з даними рентгеноструктурного аналізу, всі ці залишки знаходяться поблизу або безпосередньо беруть участь у формуванні GDP-зв'язувальної «кишені» eEF1A. Ці залишки забезпечують взаємодію з гуаніновим кільцем GDP, у той час як, ґрунтуючись на результатах рентгеноструктурного аналізу, із фосфатними групами тієї ж молекули GDP можуть взаємодіяти амінокислоти в ділянці від 15-го до 19-го залишку eEF1A [22], тобто ті, яких немає в ΔeEF1A або в білку РТІ-1. Логічно припустити, що якщо ця частина GDP-зв'язувального сайту в ΔeEF1A відсутня, то спорідненість згаданого білка до GDP буде меншою, що і підтверджується як нашими, так і літературними даними [15, 23]. Таким чином, знижена здатність білкового продукту онкогену РТІ-1 зв'язувати GDP може сприяти зростанню помилковості трансляції.

Отже, нами вперше показано, що втрата частини GTP-зв'язувального домену, яка відповідає за зв'язування фосфатних груп даного нуклеотидфосфату, може бути важливою для коректного функціонування eEF1A в трансляції. Результати роботи свідчать про те, що ΔeEF1A, використаний як модель білкового продукту РТІ-1, здатний брати участь у процесі біосинтезу білка *in vitro*, а також спричинює підвищення включення помилкових амінокислот рибосомами. Таким чином, не виключено, що поява в пухлинних клітинах білка РТІ-1 може призводити до синтезу білків із зміненими функціями або ж повністю не функціональних, що свідчить на користь трансляційного механізму участі онкогену РТІ-1 у канцерогенезі. З'ясування можливої участі білкового продукту гена РТІ-1 в індукції трансляційних помилок *in vivo* є завданням наступних досліджень.

A. P. Pogribna, B. S. Negrutskii, A. V. Elskaya

Removal of part of the eEF1A GTP binding domain induced translation errors *in vitro*

Summary

Eukaryotic translation elongation factor 1A (eEF1A) is one of the main components of the translation machinery acting at the elongation step. Oncogene PTI-1 which is expressed during prostate cancer development, codes the protein, homologous to eEF1A. In this paper the hypothesis is tested that the gene PTI-1 protein product can influence accuracy of translation. The ability of the PTI-1 protein analogue to stimulate misincorporation of leucine by ribosomes programmed with poly(U) was demonstrated. This finding favors the hypothesis about the ability of the PTI-1 oncogene product to influence translation accuracy *in vivo*.

Key words: eukaryotic translation elongation factor 1A, oncogene PTI-1, ribosome, tRNA.

A. П. Погребная, Б. С. Негруцкий, А. В. Ельская

Удаление части GTP-связывающего домена эукариотного фактора элонгации трансляции 1A приводит к индукции трансляционных ошибок *in vitro*

Резюме

Эукариотный фактор элонгации трансляции 1A (eEF1A) является одним из главных компонентов аппарата белкового синтеза на стадии элонгации. Онкоген РТІ-1, экспрессия которого обнаружена при раке предстательной железы человека, кодирует белок — гомолог eEF1A. Проверена гипотеза о том, что белковый продукт гена РТІ-1 влияет на точность трансляции. Продемонстрирована способность аналога РТІ-1 стимулировать ошибочное включение лейцина рибосомами, программированными поли(У)-матрицей, что подтверждает возможность продукта гена РТІ-1 влиять на точность трансляции *in vivo*.

Ключевые слова: эукариотный фактор элонгации трансляции 1A, онкоген РТІ-1, рибосома, тРНК.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Yang W., Boss W. F. Regulation of phosphatidylinositol 4-kinase by the protein activator PIK-A49. Activation requires phosphorylation of PIK-A49 // J. Biol. Chem.—1994.—269.—P. 3852—3857.
2. Shiina N., Gotoh Y., Kubomura N., Iwamatsu A., Nishida E. Microtubule severing by elongation factor 1 alpha // Science.—1994.—266.—P. 282—285.
3. Kurawaya Y., Hanyu K., Watanabe Y., Numata O. F-actin bundling activity of Tetrahymena elongation factor 1α is regulated by Ca²⁺/calmodulin // J. Biol. Chem.—1996.—119.—P. 791—798.
4. Ruest L.-B., Marcotte R., Wang E. Peptide elongation factor

- eEF1A-2/S1 expression in cultured differentiated myotubes and its protective effect against caspase-3 mediated apoptosis // *J. Biol. Chem.*—2002.—277.—P. 5418—5425.
5. Grant A. G., Flomen R. M., Tizard M. L., Grant D. A. Differential screening of a human pancreatic adenocarcinoma lambda gt11 expression library has identified increased transcription of elongation factor EF-1 alpha in tumor cells // *Int. J. Cancer.*—1992.—50.—P. 740—745.
 6. Edmonds B. T., Wyckoff J., Yeung Y. G., Wang Y., Stanley E. R., Jones J., Segall J., Condeelis J. Elongation factor-1 alpha is an overexpressed actin binding protein in a metastatic rat mammary adenocarcinoma // *J. Cell. Science.*—1996.—109.—P. 2705—2714.
 7. Cimarelli A., Luban J. Translation elongation factor 1-alpha interacts specifically with human immunodeficiency virus type 1 Gag polyprotein // *J. Virol.*—1999.—73.—P. 5388—5401.
 8. Reynet C., Kahn C. R. Unbalanced expression of the different subunits of elongation factor 1 in diabetic skeletal muscle // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2001.—98.—P. 3422—3427.
 9. Ejiri S.-I. Moonlighting functions of polypeptide elongation factor 1: From actin bundling to zinc finger protein R1-associated nuclear localization // *Biosci. Biotechnol. and Biochem.*—2002.—66.—P. 1—21.
 10. Shen R., Su Z. Z., Olsson C. A., Fisher P. B. Identification of the human prostatic carcinoma oncogene PTI-1 by rapid expression cloning and differential RNA display // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1995.—92.—P. 6778—6782.
 11. Mansilla F., Hansen L. L., Jakobsen H., Clarck B. F. C., Kjeldgaard N. O., Knudsen Ch. R. Deconstructing PTI-1: PTI-1 is a truncated, but not mutated, form of translation elongation factor 1A1, eEF1A1 // *J. Biochem. Biophys.*—2005.—1727.—P. 116—124.
 12. Zao-zhong S., Goldstein N. I., Fisher P. B. Antisense inhibition of the PTI-1 oncogene reverses cancer phenotypes // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95.—P. 1764—1769.
 13. Gopalkrishnam R. V., Su Z. Z., Goldstein N. I., Fisher P. B. Translation infidelity and human cancer: role of PTI-1 oncogene // *Int. J. Biochem. Cell Biol.*—1999.—31.—P. 151—162.
 14. Sandbaken M. G., Gulbertson M. R. Mutations in elongation factor EF-1{alpha} affect the frequency of frameshifting and amino acid misincorporation in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics.*—1988.—120.—P. 923—934.
 15. Погребная А. П., Горчаков С. В., Негруцкий Б. С. Сравнительный анализ функциональной активности нативной и модифицированной трипсином форм эукариотического фактора элонгации трансляции 1A // *Биополимери і клітина.*—2004.—20, № 4.—С. 300—307.
 16. El'skaya A. V., Ovcharenko G. V., Pa'chevskii 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 ribosomes from higher eukaryotes // *Biochemistry.*—1997.—36.—P. 10492—10497.
 17. Agafonov D. E., Spirin A. S. The ribosome-associated inhibitor A reduces translation errors // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—2004.—320.—P. 354—358.
 18. El'skaya A. V., Soldatkin A. P. The accuracy of Poly(U) translation by different eukaryotic tRNAs // *FEBS Lett.*—1983.—164.—P. 93—96.
 19. Abbott C. M., Proud C. G. Translation factors in sickness and health // *Trends Biochem. Sci.*—2004.—29.—P. 25—31.
 20. Cavallius J., Merrick W. C. Site-directed mutagenesis of yeast eEF1A. Viable mutants with altered nucleotide specificity // *J. Biol. Chem.*—1998.—273.—P. 28752—28758.
 21. Carr-Schmid A., Durko N., Cavallius J., Merrick W. C., Kinzy T. G. Mutations in a GTP-binding motif of eukaryotic elongation factor 1A reduce both translational fidelity and the requirement for nucleotide exchange // *J. Biol. Chem.*—1999.—274.—P. 30297—30302.
 22. Vitagliano L., Ruggiero A., Masullo M., Cantiello P., Arcari P., Zagari A. The crystal structure of *Sulfolobus solfataricus* elongation factor 1 α in complex with magnesium and GDP // *Biochemistry.*—2004.—43.—P. 6630—6636.
 23. Kinzy T. G., Merrick W. C. Characterization of a limited trypsin digestion form of eukaryotic elongation factor 1 α // *J. Biol. Chem.*—1991.—266.—P. 4099—4110.

УДК 577.217

Надійшла до редакції 11.07.05