

2. Nierhaus K. H., Rheinberger H.-J. An alternative model for the elongation cycle of protein biosynthesis // Trends Biochem. Sci.—1984.—9, N 10.—P. 428—432.
3. Nierhaus K. H. New aspects of the ribosomal elongation cycle // Nucl. and Cell. Biochem.—1984.—61, N 1.—P. 63—81.
4. Rheinberger H.-J., Sternbach H., Nierhaus K. H. Three tRNA binding sites on *Escherichia coli* ribosomes // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1981.—78, N 9.—P. 5310—5314.
5. Rheinberger H.-J., Nierhaus K. H. Simultaneous binding of three tRNA molecules by the ribosomes of *Escherichia coli* // Biochem. Int.—1980.—1, N 4.—P. 297—303.
6. Grajevskaja R. A., Ivanov Yu. V., Saminski E. M. 70S ribosomes of *Escherichia coli* have an additional site for deacylated tRNA binding // Eur. J. Biochem.—1982.—128, N 1.—P. 47—52.
7. Wettstein F. O., Noll H. Binding of transfer ribonucleic acid to ribosomes in protein synthesis. Number and properties of ribosomal binding sites // J. Mol. Biol.—1965.—11, N 1.—P. 35—53.
8. Kirillov S. V., Makarov E. M., Semenov Yu. P. Quantitative study of interaction of deacylated tRNA with *Escherichia coli* ribosomes // FEBS Lett.—1983.—157, N 1.—P. 91—94.
9. Lill R., Robertson J. M., Wintermeyer W. tRNA-ribosome complex formation: equilibrium and kinetic studies // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.—1983.—364, N 9.—P. 1171—1172.
10. Дорохов Д. Б., Бурд С. Б., Семенов Ю. П. Взаимодействие тРНК<sup>Phe</sup>-С-С-А(3'NH)-Phe — аналога аминоацил-тРНК с 70S рибосомой // Изв. АН МССР.—1985.—№ 4.—С. 10—13.
11. Robertson J. M., Lill R., Wintermeyer W. Elongation factor G-induced realised of tRNA during ribosomal translocation // 5th Int. symp. metabolism and enzymol. of nucl. acids.—Bratislava: Publ. Hause Slovak Acad. Sci., 1984.—P. 349—360.
12. Kirillov S. V., Makhno V. I., Semenov Yu. P. Mechanism of codon-anticodon interaction in ribosomes. Direct functional evidence that isolated 30S subunits contain two codon-specific binding sites for transfer RNA // Nucl. Acids Res.—1980.—8, N 1.—P. 183—196.
13. Katunin V. I., Semenov Yu. P., Kirillov S. V. Comparative study of polyuridylic acid binding with 30S subunits and 70S ribosomes of *Escherichia coli* // Ibid.—N 2.—P. 403—421.
14. Семенов Ю. П., Макаров Е. М., Кириллов С. В. Количественное изучение взаимодействия деацелированной тРНК с Р-, А- и Е-сайтами 70S рибосомы *Escherichia coli* // Биополимеры и клетка.—1985.—1, № 4.—С. 183—193.
15. Kirillov S. V., Semenov Yu. P. Non-exclusion principle of Ac-Phe-tRNA interaction with the donor and acceptor sites of *Escherichia coli* ribosomes // FEBS Lett.—1982.—148, N 2.—P. 235—238.
16. The mechanism of codon-anticodon interaction in ribosomes. Heterogeneity of tRNA complexes with 70S ribosomes of *Escherichia coli* / S. V. Kirillov, V. I. Makhno, V. B. Odinzov, Yu. P. Semenov // Eur. J. Biochem.—1978.—89, N 3.—P. 305—313.
17. Arai K., Kawakita M., Kaziro Y. Studies on polypeptide elongation factors from *E. coli* // J. Biol. Chem.—1972.—247, N 14.—P. 7029—7037.
18. Odinzov V. B., Kirillov S. V. Interaction of N-acetyl-phenylalanyl-tRNA with 70S ribosomes of *Escherichia coli* // Nucl. Acids Res.—1978.—5, N 10.—P. 3871—3879.

Ленинград. ин-т ядер. физики  
им. Б. П. Константинова АН СССР, Гатчина  
Ин-т эколог. генетики АН МССР, Кишинев

Получено 12.01.88

УДК 577.217.34

## ФОТОАФИННАЯ МОДИФИКАЦИЯ Е-САЙТА РИБОСОМ *ESCHERICHIA COLI*

С. Н. Владимиров, Д. М. Грайфер, М. А. Зенкова, Г. Г. Карпова,  
Л. В. Оленина, С. В. Кириллов, Е. М. Макаров, В. И. Махно,  
Ю. П. Семенов

**Введение.** В последнее время в различных лабораториях было показано, что деацелированная тРНК (тРНК<sub>OH</sub>) в отличие от аминоацил- или пептидил-тРНК может связываться с 70S рибосомами в дополнительном сайте, отличном от классических А- или Р-сайтов [1—4]. Было сделано предположение о том, что этот сайт играет роль «выходного» (exit, или Е-сайт) для тРНК<sub>OH</sub> в цикле элонгации. Однако имеющиеся

доказательства этой гипотезы [5, 6] недостаточно убедительны. Связывание тРНК<sub>ОН</sub> в дополнительном сайте является кодон-зависимым согласно данным, полученным в группе Нирхауса [1, 5, 6], три другие группы авторов наблюдали независимое от матрицы связывание тРНК<sub>ОН</sub> в дополнительном сайте [2—4]. В обоих случаях участок связывания тРНК<sub>ОН</sub> обозначали буквой Е.

Изолированная 30S субчастица имеет только два сайта для связывания тРНК в любой функциональной форме; в составе 70S рибосом они проявляют свойства А- и Р-сайтов [3, 7, 8]. Эти два сайта 30S субчастицы вносят основной вклад в энергию связывания тРНК с А- и Р-сайтами 70S рибосом. Третий сайт, специфический для тРНК<sub>ОН</sub>, появляется только в 70S рибосоме [3]. Связывание тРНК<sub>ОН</sub> с 50S субчастицей во многом сходно с таковым в Е-сайте 70S рибосом, а именно: оно кодон-независимо [2—4, 9—11]; специфично для тРНК<sub>ОН</sub> [1—4, 9, 10]; сродство тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub> к Е-сайту и к изолированным 50S субчастицам почти одинаково [3, 9, 10]. На этом основании было сделано предположение о том, что сайт связывания тРНК<sub>ОН</sub> на 50S субчастице составляет основу Е-сайта 70S рибосом или идентичен ему [2, 3].

В данной работе для изучения белкового окружения тРНК в кодон-независимом Е-сайте 70S рибосомы и в комплексе с 50S субчастицей мы использовали подход, основанный на фотоаффинной модификации рибосом реакционноспособными производными тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub>. Такие производные, несущие арилазидогруппы, статистически распределенные по остаткам гуанина, позволили детально изучить белковое окружение тРНК, связанной в различных функциональных состояниях с А и Р-сайтами [12, 13].

**Материалы и методы.** 30S и 50S рибосомные субчастицы выделяли из биомассы *E. coli* MRE-600, как описано в [8]. 70S рибосомы, полученные реассоциацией этих субчастиц, были полностью активны в связывании тРНК в А-, Р- и Е-участках и в образовании пептидной связи. Препараты тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub> (1450 пмоль/ОЕ<sub>260</sub>), [<sup>14</sup>C]тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub> (1300 пмоль/ОЕ<sub>260</sub>), Ac[<sup>14</sup>C]Phe-тРНК<sup>Phe</sup> (1500 пмоль/ОЕ<sub>260</sub>) и фракционированная поли(У) (средняя молекулярная масса 30 000) получены, как в работах [7, 8]. [<sup>14</sup>C]азидо-тРНК получали алкилированием тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub> 4-(N-2-хлорэтил-N-метиламино) [<sup>14</sup>C]бензиламином (370 ГБк/ммоль) в условиях лабильности третичной структуры тРНК с последующей обработкой алкилированной тРНК 2,4-динитро-5-фторфенилазидом по методу [12, 13].

Антибиотики эднин («Calbiochem», США) и тетрациклин («Serva», ФРГ) использовали в конечных концентрациях  $3 \cdot 10^{-5}$  М; РНКазы А и T<sub>1</sub> фирмы «Sanryo Co» (Япония), щелочная фосфатаза фирмы «Calbiochem».

Связывание [<sup>14</sup>C]тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub> и азидо-тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub> с 70S или 50S рибосомами проводили в буфере 1 (20 мМ трис-НСl, рН 7,5, 200 мМ NH<sub>4</sub>Cl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>). В экспериментах по идентификации белков, сшитых с азидо-тРНК, связанной в Е-участке 70S рибосом, реакционные смеси содержали 30S и 50S субчастицы ( $2 \cdot 10^{-6}$  М), где указано — эднин и тетрациклин, и в некоторых случаях — поли(У) (50 мкг/мл). Связывание азидо-тРНК ( $1,2 \cdot 10^{-5}$  М) с 50S субчастицами ( $3 \cdot 10^{-6}$  М) проводили в буфере 1 при 0°C; время инкубации 2 ч. После инкубации комплексы [<sup>14</sup>C]азидо-тРНК с рибосомами облучали УФ-светом ( $\lambda > 310$  нм). Распределение радиоактивной метки между рибосомными субчастицами анализировали центрифугированием облученных комплексов в градиенте концентрации сахарозы 10—30 % в условиях диссоциации на субчастицы (0,5 мМ Mg<sup>2+</sup>). В экспериментах по идентификации белков, сшитых с азидо-тРНК, брали 0,8 нмоля 50S или 4 нмоля 70S рибосом. Белки экстрагировали из модифицированных рибосом 2 М LiCl в 4 М мочеvine; ковалентно присоединенную азидо-тРНК гидролизировали РНКазами А и T<sub>1</sub> и щелочной фосфатазой; распределение метки между рибосомными белками анализировали электрофорезом в полиакриламидном геле (ПААГ), как в [12, 13].

**Результаты и обсуждение.** Модификация 50S субчастиц. Связывание азидо-тРНК с 50S субчастицами ингибируется избытком немодифицированной тРНК<sub>ОН</sub> (рис. 1). Это свидетельствует в пользу того, что азидо-тРНК связывается с тем же сайтом, что и нативная

тРНК<sub>Оп</sub>. Рибосомные белки, выделенные из облученного комплекса азидо-тРНК с 50S субчастицами, анализировали двухмерным электрофорезом в ПААГ. Распределение метки <sup>14</sup>C между белками приведено на рис. 2, а. Видно, что модификации подвергаются обозначенные белки.

Модификация Е-сайта 70S рибосом. Связывание азидо-тРНК<sub>Оп</sub> с Е-сайтом проводили в различных условиях: а) в отсутствие

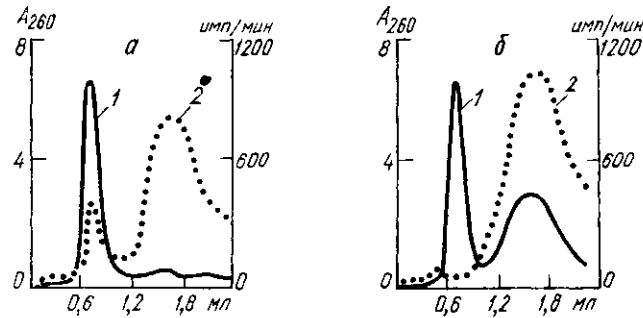


Рис. 1. Профили гель-фильтрации на сефадексе G-200 (колонка 5,4×130 мм) комплексов [<sup>14</sup>C]азидо-тРНК·50S, полученных в отсутствие (а) или в присутствии (б) 30-кратного молярного избытка тРНК<sub>Оп</sub> по отношению к азидо-тРНК: 1 — 50S; 2 — тРНК. Элюцию вели буфером 1 при 10 °С

Fig. 1. Gel-filtration profiles of complexes [<sup>14</sup>C]azido-tRNA·50S obtained in the absence (a) or presence (b) of 30-fold molar excess of unmodified bulk tRNA over azido-tRNA. Column with Sephadex G-200 was used (5.4×130 mm); elution was with buffer 1 at 10 °C. (—) A<sub>260</sub>; (...) cpm. 1 — 50S, 2 — tRNA

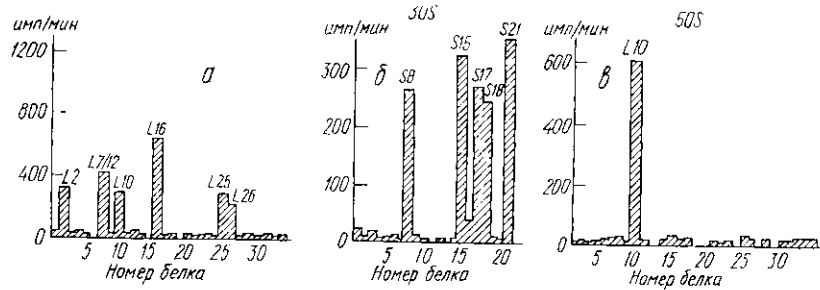


Рис. 2. Распределение радиоактивной метки между рибосомными белками после облучения комплексов [<sup>14</sup>C]азидо-тРНК·50S (а) и [<sup>14</sup>C]азидо-тРНК·70S, полученного в отсутствие матрицы и в присутствии эдеина (б, в)

Fig. 2. Distribution of the radioactive label among the ribosomal proteins after irradiation of complexes [<sup>14</sup>C]50S azido-tRNA (a) and [<sup>14</sup>C]70S azido-tRNA (obtained in the absence of a template and in the presence of edeine) (b, v)

матрицы и при Р-сайте, блокированном АсPhe-тРНК<sup>Phe</sup> (таблица, эксперименты 1 и 2); б) в отсутствие матрицы, в присутствии эдеина (таблица, эксперимент 3), ингибирующего связывание любых форм тРНК с Р-сайтом [3, 14]; в) в присутствии поли(U) и одновременно тетрациклина и эдеина (таблица, эксперимент 4), блокирующих связывание тРНК соответственно с А- и Р-сайтами. В отсутствие матрицы тРНК<sub>Оп</sub> может связываться как с Р-, так и с Е-сайтом, в то время как АсPhe-тРНК — только с Р-сайтом. Для того чтобы блокировать Р-сайт (таблица, эксперименты 1 и 2), 70S рибосомы инкубировали с 2,5-кратным молярным избытком Ас[<sup>14</sup>C]Phe-тРНК<sup>Phe</sup>. Уровень связывания последней тестировали с помощью нитроцеллюлозных фильтров [3, 7, 8]; он составлял не менее 0,8 моля АсPhe-тРНК<sup>Phe</sup> на моль 70S рибосом.

Эдеин понижает константу ассоциации тРНК с Р-сайтом на два порядка величины и значительно понижает скорость связывания [14]. Кинетические кривые связывания [<sup>14</sup>C]тРНК<sup>Phe</sup><sub>Оп</sub> с комплексом 70S×поли(U) в присутствии или в отсутствие эдеина и тетрациклина приведены на рис. 3. тРНК брали в насыщающей концентрации так, что в отсутствие антибиотиков все активные участки рибосом были заполнены (рис. 3, кривая 1). Тетрациклин ингибирует связывание одной

Распределение ковалентно связанной [ $^{14}\text{C}$ ]азидо-тРНК между 30S и 50S субчастицами после облучения комплексов азидо-тРНК с 70S рибосомой, полученных в различных условиях

Distribution of covalently linked [ $^{14}\text{C}$ ]azido-tRNA between 30S and 50S subunits after irradiation of the complexes of azido-tRNA with 70S ribosomes

Номер эксперимента	Поли(U)	Преинкубация рибосом с АсPhe-тРНК <sup>Phe</sup>	Эденн	Тетрациклин	100-кратный избыток тРНК <sub>ОН</sub> по отношению к азидо-тРНК	Азидо-тРНК/субчастицы, моль/моль	
						30S	50S
1*	—	+	—	—	—	0,230	0,025
2*	—	+	—	—	+	0,010	0,010
3	—	—	+	—	—	0,137	0,010
4	+	—	+	+	—	0,124	0,016

\* Концентрации 70S рибосом и азидо-тРНК были соответственно  $1,5 \cdot 10^{-6}$  и  $4,5 \cdot 10^{-6}$  М.

молекулы тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub>, очевидно, с А-сайтом (рис. 3, кривая 2). В присутствии обоих антибиотиков (рис. 3, кривая 3) наблюдается быстрое (около одной минуты) связывание одной молекулы тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub> с Е-участком, нечувствительное к антибиотикам [14]; связывание с Р (или с Р и А) сайтом в этом случае происходит очень медленно (часы) [14]. Следовательно, связывание преимущественно с Е-сайтом может быть реализовано при использовании коротких времен инкубации соответствующего комплекса. В данном случае при связывании азидо-тРНК с Е-сайтом в присутствии антибиотиков инкубацию вели 5 мин.

Полученные комплексы облучали, затем проводили деление рибосом на субчастицы, как описано в разделе «Материалы и методы». Распределение радиоактивной метки между рибосомными субчастицами приведено в таблице. Видно, что во всех случаях модифицируется преимущественно 30S субчастица. Фотосшивки специфичны (не наблюдаются вне комплекса), поскольку они ингибируются избытком немодифицированной тРНК (таблица, эксперимент 2). Факт преимущественной модификации 30S субчастиц следует обсудить подробнее, поскольку такая модификация наблюдалась ранее при локализации азидо-тРНК в Р-сайте [12, 13, 15]. В первом типе экспериментов (таблица, эксперименты 1, 2) нельзя исключить некоторого «паразитического» связывания азидо-тРНК<sub>ОН</sub> с Р-сайтом за счет обмена с АсPhe-тРНК<sup>Phe</sup> (либо со свободным Р-сайтом), так как сродство тРНК<sup>Phe</sup><sub>ОН</sub> к Р-сайту заметно выше, чем АсPhe-тРНК<sup>Phe</sup> при 20 мМ Mg<sup>2+</sup> и 0 °С [16]. Возможность связывания тРНК<sub>ОН</sub> с Р-сайтом была исключена в присутствии эденна (таблица, эксперименты 3, 4) и за счет коротких времен инкубации — 5 мин (рис. 3). Однако и в этих экспериментах наблюдалась преимущественная модификация 30S субчастицы. Этот факт может объясняться двояко: либо Е-сайт вносится в рибосому не 50S субчастицей, как таковой, а путем конформационных изменений, вызванных ассоциацией субчастиц в 70S рибосому, либо Е-сайт все же поступает с 50S субчастицей, но расположение этого сайта в 70S рибосоме предполагает более вероятный контакт тРНК с 30S субчастицей.

Идентификация 70S рибосомных белков, подвергающихся модификации азидо-тРНК. Белки, «сшитые» с азидо-тРНК, анализировали для комплекса азидо-тРНК с 70S рибосомами в отсутствие матрицы и в присутствии эденна (таблица, эксперимент 3). Это условия наиболее точной фиксации азидо-тРНК в Е-сайте. Из рис. 2 (б, в) видно, какие белки подвергаются модификации в этом случае. Азидо-тРНК, связанная с изолированными 50S субчастицами, модифицирует белки, указанные на рис. 2, а. Единственный белок большой субчастицы, модифицируемый азидо-тРНК в Е-сайте 70S рибосом, — L10 — сшивается с производным тРНК и в составе комплекса с изолированными 50S субчастицами. Набор белков, модифицируемых азидо-тРНК в Е-сайте 70S рибосом, существенно от-

личается от наборов белков, сшивающихся с азидо-тРНК в А- и Р-сайтах в различных функциональных состояниях [12, 13, 15] (рис. 4). Следовательно, белковое окружение тРНК<sub>OH</sub> в Е-сайте отличается от окружения тРНК в А- или Р-сайтах; это свидетельствует в пользу физической индивидуальности дополнительного участка связывания тРНК<sub>OH</sub> (см. также рис. 4). Только белок S21 модифицируется азидо-тРНК,

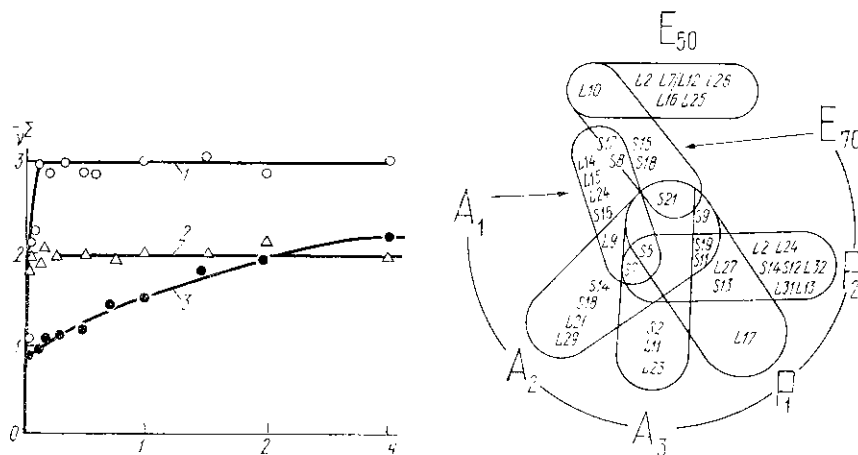


Рис. 3. Кинетика связывания  $[^{14}\text{C}]$ тРНК<sup>Phe</sup><sub>OH</sub> с комплексом 70S-поли(U) в отсутствие антибиотиков (1), в присутствии  $2 \cdot 10^{-5}$  М тетрациклина (2); одновременно тетрациклина и  $5 \cdot 10^{-6}$  М эдеина (3). Реакционные смеси содержали в 100 мкл буфера 10 пмоль 70S рибосом, 10 мкг поли(U) и 100 пмоль активной  $[^{14}\text{C}]$ тРНК<sup>Phe</sup><sub>OH</sub>,  $\bar{v}^2$  — число молекул тРНК, связанных с одной рибосомой

Fig. 3. Kinetics of  $[^{14}\text{C}]$ tRNA<sup>Phe</sup><sub>OH</sub> binding to the complex 70S·poly(U) in the absence of antibiotics (1), in the presence of  $2 \cdot 10^{-5}$  M tetracycline (2) and in the presence of both  $2 \cdot 10^{-5}$  M tetracycline and  $5 \cdot 10^{-6}$  M edeine (3). Reaction mixtures contained 1·10 pmoles of 70S ribosomes, 10  $\mu\text{g}$  poly(U) and 100 pmoles of an active  $[^{14}\text{C}]$ tRNA<sup>Phe</sup><sub>OH</sub> in 100  $\mu\text{l}$  of buffer; at 0°C.  $\bar{v}^2$  — number of tRNA molecules bound per ribosome

Рис. 4. Наборы рибосомных белков, модифицируемых азидо-тРНК в процессе прохождения ее через различные модельные состояния цикла элонгации: А<sub>1</sub> — Phe-азидо-тРНК связана энзиматически в А-участке до гидролиза GTP («R»-участок) [13]; А<sub>2</sub> — то же, но после гидролиза GTP перед транспептидацией [13]; А<sub>3</sub> — то же после транспептидации [13]; P<sub>1</sub> — (Phe)<sub>n</sub>-азидо-тРНК в Р-участке (посттранслокационное состояние) [12]; P<sub>2</sub> — азидо-тРНК в Р-участке, (Phe)<sub>n+1</sub>-тРНК в А-участке (претранслокационное состояние следующего цикла) [12]; E<sub>70</sub> — E-участок 70S рибосомы; E<sub>50</sub> — участок связывания тРНК<sup>Phe</sup><sub>OH</sub> на изолированной 50S субчастице

Fig. 4. The sets of ribosomal proteins which were identified to be cross-linked with azido-tRNA in the course of its passage through different model states of elongation cycle: A<sub>1</sub> — Phe-azido-tRNA located enzymatically at A-site before GTP hydrolysis (R-site) [13]; A<sub>2</sub> — the same but after GTP hydrolysis before transpeptidation [13]; A<sub>3</sub> — the same but after transpeptidation [13]; P<sub>1</sub> — (Phe)<sub>n</sub>-azido-tRNA at P-site (posttranslocational state) [12]; P<sub>2</sub> — azido-tRNA<sup>Phe</sup> at P-site, (Phe)<sub>n+1</sub>-tRNA at A-site (pretranslocational state of the next cycle) [12]; E<sub>70</sub> — 70S ribosomal E-site; E<sub>50</sub> — a site for tRNA<sub>OH</sub> binding on isolated 50S subunit

локализованной как в Е-, так и в А- или Р-сайтах в некоторых функциональных состояниях [12, 13, 15] (см. также рис. 4). Можно полагать, что в процессе перехода А→Р→Е<sub>70</sub> (если Е-сайт действительно играет роль выходного) положение тРНК относительно белка S21 наиболее консервативно. Факт отсутствия большинства сшивок азидо-тРНК-50S в Е-сайте 70S рибосомы подтверждает вывод о том, что положение тРНК<sub>OH</sub> относительно 50S субчастицы в Е-сайте 70S рибосомы существенно отличается от такового в составе комплекса с изолированной 50S субчастицей. Только белок L10 способен модифицироваться азидо-тРНК как в составе комплекса с изолированными 50S субчастицами, так и в Е-сайте 70S рибосом. Таким образом, если Е-сайт и вносится в 70S рибосому ее 50S субчастицей, расположение тРНК в Е-сайте 70S рибосомы относительно 50S субчастицы существенно отличается от такового на изолированной 50S субчастице.

PHOTOAFFINITY MODIFICATION OF E-SITE  
of *Escherichia coli* RIBOSOMES

S. N. Vladimirov, D. M. Graifer, M. A. Zenkova, G. Y. Karpova,  
L. V. Olenina, S. V. Kirillov\*, E. M. Makarov\*, V. I. Makhno\*, Yu. P. Semenov\*

Institute of Bioorganic Chemistry,  
Siberian Branch of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk;

\* B. P. Konstantinov Institute of Nuclear Physics,  
the Academy of Sciences of the USSR, Gatchina, Leningrad Region

Summary

Photoaffinity modification of *E. coli* ribosomes with tRNA<sup>Phe</sup> derivative bearing arylazidogroups statistically scattered over guanine residues was studied under conditions of binding of the deacylated tRNA<sup>Phe</sup> (tRNA<sub>OH</sub><sup>Phe</sup>) derivative at 70S ribosomal E-site (without template, in the presence of antibiotic edeine). Proteins S8, S15, S17, S18, S21 and L10 were found to be labelled. Another set of proteins — L2, L7/L12, L10, L16, L25 and L26 — was identified as being labelled within the complex of the tRNA<sub>OH</sub><sup>Phe</sup> derivative with isolated 50S subunits.

1. Rheinberger H.-J., Sternbach H., Nierhaus K. H. Three tRNA binding sites on *Escherichia coli* ribosomes // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1981.— 78, N 9.— P. 5310—5314.
2. Grajevskaja R. A., Ivanov Yu. V., Saminsky E. M. 70S ribosomes of *Escherichia coli* have an additional site for deacylated tRNA binding // Eur. J. Biochem.— 1982.— 128, N 1.— P. 47—52.
3. Kirillov S. V., Makarov E. M., Semenov Yu. P. Quantitative study of interaction of deacylated tRNA with *Escherichia coli* ribosomes. Role of 50S subunits in formation of the E site // FEBS Lett.— 1983.— 157, N 1.— P. 91—94.
4. Lill R., Robertson J. M., Wintermeyer W. The tRNA binding sites of ribosomes from *Escherichia coli* // Biochemistry.— 1984.— 23, N 26.— P. 6710—6717.
5. Rheinberger H.-J., Nierhaus K. H. Testing an alternative model for the ribosomal peptide elongation cycle // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1983.— 80, N 14.— P. 4213—4217.
6. Rheinberger H.-J., Nierhaus K. H. Allosteric interactions between the ribosomal transfer RNA-binding sites A and E // J. Biol. Chem.— 1986.— 261, N 20.— P. 9133—9139.
7. Семенов Ю. П., Макаров Е. М., Кириллов С. В. Количественное изучение взаимодействия деацилированной тРНК с Р-, А- и Е-сайтами рибосом *Escherichia coli* // Биополимеры и клетка.— 1985.— 1, № 4.— С. 183—193.
8. Kirillov S. V., Makhno V. I., Semenov Yu. P. Mechanism of codon-anticodon interaction in ribosomes. Direct functional evidence that isolated 30S subunits contain two codon-specific binding sites for transfer RNA // Nucl. Acids Res.— 1980.— 8, N 1.— P. 183—196.
9. Grajevskaja R. A., Saminsky E. M., Bresler S. E. Interaction of transfer RNA with ribosomes in the absence of messenger // Biochem. and Biophys. Res. Commun.— 1972.— 46, N 3.— P. 1106—1112.
10. Парфенов Д. В., Саминский Е. М. Дезацилированная тРНК связывается с 50S субчастицей рибосом *Escherichia coli* на специальный участок, не совпадающий с участком Р // Молекуляр. биология.— 1985.— 19, № 5.— С. 1378—1385.
11. Изучение взаимодействия транспортной РНК с 50S субчастицами рибосом *Escherichia coli* в отсутствие матриц / С. Е. Бреслер, Р. А. Граевская, Ю. В. Иванов, Е. М. Саминский // Там же.— 1976.— 10, № 4.— С. 777—784.
12. The effect of aminoacyl or peptidyl-tRNA at the A-site on the arrangement of deacylated tRNA at the ribosomal P-site / G. T. Babkina, E. V. Bausk, D. M. Graifer et al. // FEBS Lett.— 1984.— 170, N 2.— P. 290—294.
13. The effect of GTP hydrolysis and transpeptidation on the arrangement of aminoacyl-tRNA at the A-site of *Escherichia coli* 70S ribosome / S. N. Vladimirov, D. M. Graifer, G. G. Karpova et al. // Ibid.— 1985.— 181, N 2.— P. 367—372.
14. Особенности влияния антибиотика эдеина на взаимодействие тРНК с участками А, Р и Е 70S рибосом *Escherichia coli* / Ю. П. Семенов, В. И. Махно, Е. М. Макаров, С. В. Кириллов // Молекуляр. биология.— 1984.— 18, № 5.— С. 1348—1351.
15. Vladimirov S. N., Graifer D. M., Karpova G. G. The effect of poly(U) on the arrangement of tRNA<sup>Phe</sup> in donor tRNA-binding site of *Escherichia coli* ribosomes // FEBS Lett.— 1982.— 144, N 2.— P. 332—336.
16. Kirillov S. V., Katunin V. I., Semenov Yu. P. Mechanism of codon-anticodon interactions in ribosomes. Comparative study of interaction of Phe-tRNA<sup>Phe</sup> and AcPhe-tRNA<sup>Phe</sup> with the donor site of *Escherichia coli* ribosomes // Ibid.— N 1.— P. 15—19.

Ин-т биоорг. химии Сиб. отд-ния АН СССР, Новосибирск  
Ленинград. ин-т ядер. физики  
им. Б. П. Константинова АН СССР, Гатчина

Получено 18.06.87