

Ченелинг в белковом синтезе

Б. С. Негруцкий

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 150

Сделан обзор литературных и полученных автором данных о ченелинге тРНК в эукариотическом белковом синтезе. Предложена гипотеза о роли GDP- и GTP-форм EF-1 α в переносе тРНК/аминоацил-тРНК между компонентами аппарата трансляции.

Введение. Идея ченелинга (channeling) метаболитов в замкнутых метаболических системах возникла относительно недавно и интенсивно развивается на протяжении последних лет. Несмотря на неоднозначное первое восприятие [1, 2], гипотеза ченелинга завоевывает все большее признание и становится одним из важных компонентов теории контроля метаболизма [3, 4]. Ченелинг — это передача метаболитов от одного фермента к другому в образующемся белок-белковым комплексе из «рук в руки», без диссоциации метаболитов в раствор. Ченелинг метаболитов между ферментами может происходить, когда продукт реакции, катализируемой одним ферментом, является субстратом для следующего за ним в метаболической цепи.

Среди потенциальных преимуществ ченелинга можно упомянуть: а) отсутствие необходимости поддерживать одинаково высокую концентрацию субстратов во всем клеточном объеме — достаточно обеспечить их оптимальную концентрацию в локальном микрокомпарменте; б) предохранение растворяющей способности цитоплазмы, которая в клетках весьма ограничена; в) защита нестабильных промежуточных продуктов метаболических путей от разрушения и предотвращение конкуренции ферментов разных метаболических путей за общие субстраты; г) новые регуляторные возможности, возникающие при ассоциации либо диссоциации микрокомпарментов ченелинга в ответ на изменяющиеся условия метаболизма, и т. д. [3, 5].

Возможность ченелинга аминоксил-тРНК в эукариотическом белковом синтезе ранее обсуждалась Спириным [6] и Дойчером [7]. Аргументами,

на которых базировалось данное предположение, были: существование мультисинтетазных комплексов; сродство практически всех аминоксил-тРНК синтетаз высших эукариот к рибосомной РНК; связь различных компонентов аппарата белкового синтеза с цитоскелетом и мембранами эндоплазматического ретикулума. Все это стало свидетельством в пользу существования в клетках животных и человека определенной структурной организации аппарата белкового синтеза, которая могла бы быть основой для функционирования микрокомпарментов белкового синтеза [8]. Приблизительно в то же время нами было высказано предположение о замкнутости трансляционного цикла, т. е. о возможности взаимодействия деацелированной тРНК, находящейся в E сайте рибосомы, с соответствующей аминоксил-тРНК синтетазой [9].

Общая схема ченелинга тРНК. Первые экспериментальные доказательства гипотезы ченелинга тРНК/аминоацил-тРНК в белковом синтезе были получены в 1991 году. Было показано, что введенная в клетки китайского хомячка экзогенная аминоксил-тРНК не способна участвовать в белковом синтезе, а синтезированная непосредственно в клетках эндогенная аминоксил-тРНК активно используется для трансляции [10, 11]. Более того, обнаружено, что эндогенная аминоксил-тРНК в незначительной степени высвобождается из клеток с перфорированной мембраной, в то время как чужеродная аминоксил-тРНК свободно распределяется между внутри- и внеклеточным пространством тех же самых клеток [12]. К тому же эндогенная аминоксил-тРНК в пермсабилизованных клетках была защищена от гидролиза РНКазой А в отличие от экзогенной аминоксил-тРНК, гидроли-

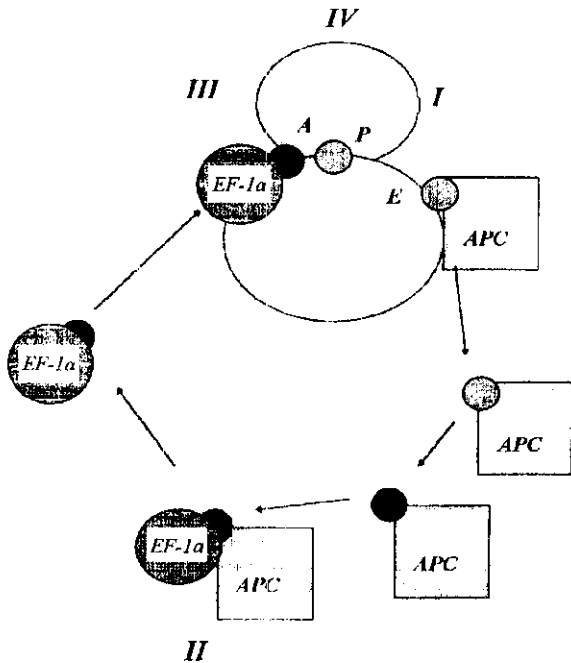


Рис. 1. Ченелинг тРНК в цикле трансляции. Деацилированная тРНК, находящаяся в Е сайте рибосомы (I), не диссоциирует в раствор до взаимодействия с аминоксил-тРНК синтетазой (APC). Происходит синтез аминоксил-тРНК, и аминоксил-тРНК передается на *EF-1α* — ГТР (II). Образовавшийся комплекс *EF-1α* — ГТР — аминоксил-тРНК взаимодействует с А сайтом рибосомы (III). Внутририбосомный путь тРНК от А до Е сайта происходит по классической схеме (IV)

зовавшейся весьма эффективно [12]. Таким образом, был сделан вывод о наличии определенной функциональной и/или структурной компартиментализации аминоксил-тРНК в клетках млекопитающих в ходе белкового синтеза, т. е. о возможности прямого переноса, или ченелинга, аминоксил-тРНК между последовательными участниками цепи белкового синтеза. Была предложена возможная схема такого процесса, изображенная на рис. 1.

Согласно такой схеме, в течение одного цикла тРНК осуществляются четыре акта прямого переноса тРНК/аминоксил-тРНК между белками. Первый (I) — перенос деацилированной тРНК с «выходного» Е сайта рибосомы на аминоксил-тРНК синтетазу (APC), второй (II) — перенос аминоксил-тРНК с аминоксил-тРНК синтетазы на фактор элонгации трансляции *1α* (*EF-1α*), третий (III) —

перенос аминоксил-тРНК с *EF-1α* на А сайт рибосомы и четвертый (IV) — внутририбосомный перенос пептидил-тРНК в Р сайт и деацилированной тРНК — Е сайт рибосомы.

Поскольку рибосомные стадии цикла тРНК в трансляции (этапы III и IV на рис. 1) довольно хорошо изучены и существование внутририбосомного переноса тРНК по маршруту: А сайт — Р сайт — Е сайт не вызывает сомнений, актуальной задачей стало доказательство возможности прямой передачи тРНК с рибосомы на белок-акцептор (этап I на рис. 1) и с аминоксил-тРНК синтетазы на *EF-1α* (этап II на рис. 1).

Прямой перенос тРНК с рибосомы на белок-акцептор. Поскольку данные о преимущественном использовании эндогенной аминоксил-тРНК для внутриклеточного белкового синтеза не позволяли судить о судьбе деацилированной тРНК, уже использованной в рибосомном этапе трансляции, вопрос о замкнутости цикла ченелинга тРНК нуждался в специальном изучении.

Ранее в бактериальной системе *in vitro* было показано, что диссоциация тРНК^{Phe} из Е сайта рибосомы ускоряется в присутствии фенилаланил-тРНК синтетазы [13]. Известны также факты стимуляции рибосомами аминоксил-тРНК синтетазной активности [14, 15], хотя еще не выяснен вопрос, имеет ли обнаруженная стимуляция некий функциональный смысл для трансляции либо является следствием общего стабилизирующего действия рибосом на белки [16].

Эти данные, косвенным образом свидетельствующие о взаимодействии рибосом с аминоксил-тРНК синтетазами, не несут все же никакой информации о степени замкнутости ченелинга тРНК непосредственно в трансляционном цикле. Определить, происходит ли утечка тРНК из трансляционных компартиментов при белковом синтезе, попытались недавно Стапуленис и Дойчер, используя как инструмент пермеабилizированные клетки китайского хомячка [17]. Поскольку внутренний объем таких клеток полностью доступен добавленной извне тРНК [11], должно быть верно и обратное, а именно: если клеточная тРНК не связана в трансляционных компартаментах, а свободно диффундирует, то в клетках с перфорированной мембраной концентрация тРНК должна во много раз уменьшаться вследствие многократного увеличения объема, в котором она растворена, за счет соединения внутреннего объема пермеабилizированных клеток с внешней средой. В свою очередь, резкое снижение концентрации субстрата должно приводить к замедлению общей скорости белкового синтеза. Было установлено, что: 1) скорость трансляции в

пермеабиллизированных клетках линейна на протяжении многих циклов трансляции; 2) избыток деацилированной либо периодически окисленной тРНК не ингибирует трансляции в таких клетках; 3) большинство клеточной популяции аминоацил-тРНК синтетаз взаимодействует только с эндогенной тРНК [17].

Изложенное выше дает основание предположить, что цикл тРНК в трансляции действительно замкнут, однако не содержит полной информации о возможном акцепторе тРНК с Е сайта рибосомы. До последнего времени *a priori* считалось, что эту функцию выполняют аминоацил-тРНК синтетазы [10]. Если это верно, то отбор тРНК аминоацил-тРНК синтетазой соответствующей специфичности должен происходить непосредственно на рибосоме. Осуществление такого отбора может влиять на скорость трансляции. Жесткое «сопряжение» аминоацилирования и трансляции при ченелинге может оказаться не совсем благоприятным для оптимального функционирования аппарата трансляции в меняющихся условиях жизнедеятельности клетки. Таким образом, аминоацил-тРНК синтетазы могут быть не совсем подходящими акцепторами тРНК с рибосомы. Однако при ченелинге эндогенная тРНК на протяжении трансляции должна все время находиться в комплексе с белками. Для разрешения этого противоречия логично предположить существование «буфера» тРНК в клетке, т. е. образование комплекса тРНК с иным, нежели синтетазы, и не столь специфическим белком, приводящее к накоплению резерва тРНК в трансляционном компартменте. Это бы, с одной стороны, обеспечило своевременный уход отработанной в данном цикле тРНК с Е сайта рибосомы, а с другой — препятствовало окончательной диссоциации тРНК из трансляционного компартмента.

Одним из кандидатов на роль акцептора тРНК в предложенной нами схеме может быть GDP-форма фактора элонгации *EF-1 α* [18]. Такая форма *EF-1 α* образуется после гидролиза GTP, входящего в тройной комплекс *EF-1 α — GTP —* аминоацил-тРНК, при отборе соответствующей кодону мРНК в А сайте рибосомы аминоацил-тРНК. Согласно данной гипотезе, *EF-1 α — GDP* взаимодействует с тРНК, находящейся в Е сайте рибосомы, образует с ней комплекс и переносит тРНК к соответствующей синтетазе.

Следует отметить, что принципиальная возможность образования неканонического комплекса *EF-1 α — GDP —* тРНК была недавно доказана с использованием трех различных методических подходов [18]. Этот факт наряду с данными о стимуляции активности фенилаланил-тРНК синте-

тазы GDP-формой *EF-1 α* [19] свидетельствует в пользу существования постулированного механизма ченелинга, по крайней мере, для некоторых аминоацил-тРНК синтетаз. Интересно, что участки тРНК^{Phe}, участвующие во взаимодействии с GDP-формой эукариотического фактора, весьма похожи на участки фенилаланил-тРНК^{Phe}, взаимодействующие с GTP-формой прокариотического фактора элонгации *EF-Tu* [20]. Сравнивая же данные об участках структуры тРНК^{Phe}, взаимодействующих с *EF-1 α — GDP* [18] и фенилаланил-тРНК синтетазой [21], можно заключить, что во взаимодействии с синтетазой и фактором вовлечены различные участки пространственной структуры молекулы тРНК, т. е. не существует стерических затруднений для образования четвертичного комплекса GDP — фактор — тРНК — аминоацил-тРНК синтетазы. Очевидно, что дальнейшие исследования в этом направлении будут развиваться по пути получения доказательств взаимодействия *EF-1 α — GDP* с деацилированной тРНК, находящейся непосредственно в Е сайте рибосомы, а также возможного формирования четвертичного комплекса GDP — *EF-1 α —* тРНК — аминоацил-тРНК синтетазы.

Прямой перенос аминоацил-тРНК от аминоацил-тРНК синтетазы к *EF-1 α* . Экспериментальные данные в поддержку прямой передачи вновь синтезированной аминоацил-тРНК с аминоацил-тРНК синтетазы на *EF-1 α* (этап II на рис. 1) были получены в лаборатории Янга [22]. Было обнаружено, что *EF-1 α* стимулирует функциональную активность аспартил-тРНК синтетазы, причем эта стимуляция наблюдается только в присутствии GTP. Хотя такая GTP-зависимость свидетельствовала в пользу вовлеченности вновь образованного тройного комплекса *EF-1 α — GTP —* аминоацил-тРНК в механизм активации, прямых доказательств непосредственного взаимодействия синтетазы и фактора не было представлено. Существенным недостатком данной работы явилось использование экспрессированной в *Escherichia coli* аспартил-тРНК синтетазы человека, обладающей крайне низкой аминоацилирующей активностью. Если причина малой активности фермента заключается в неправильной укладке его пространственной структуры в бактериальной клетке, то нельзя исключить, что эффект *EF-1 α* в описанных выше экспериментах объясняется не ченелингом, а неспецифической способностью фактора элонгации содействовать рефолдингу белковых молекул. Принципиальная возможность такой функции недавно показана для бактериального фактора элонгации *EF-Tu* [23].

Весьма привлекательным объектом для изуче-

ния возможности ченелинга тРНК от аминоксил-тРНК синтетазы к *EF-1α* является стабильный комплекс валил-тРНК синтетазы с полной формой фактора трансляции 1 — *EF-1αβγδ* [24]. Однако ранее не было обнаружено заметного влияния сосуществования аминоксил-тРНК синтетазы и *EF-1α* в одном комплексе ни на активность синтетазы, ни на активность фактора [25, 26]. Мы предположили, что, если в процесс ченелинга вовлечено образование тройного комплекса аминоксил-тРНК — GTP — *EF-1α*, то количество фактора элонгации в смеси должно поддерживаться эквимолярным по отношению к количеству продукта реакции (аминоксил-тРНК), а не по отношению к валил-тРНК синтетазе, как это имеет место в комплексе валил-тРНК синтетаза — *EF-1αβγδ*. Действительно, при увеличении количества *EF-1α* в смеси наблюдалось двукратное повышение начальной скорости работы фермента (Негруцкий и соавт., готовится к публикации). В этом случае наблюдалась абсолютная зависимость стимуляторного эффекта от GTP. Интересно, что *EF-1α* не обладал стимуляторным действием на диссоциированную из комплекса валил-тРНК синтетазу, что предполагает большую значимость для передачи тРНК от синтетазы к фактору пространственной организации данного мультисубъединичного комплекса, содержащего помимо этих белков еще и субъединицы, обеспечивающие эффективный обмен GTP и GDP в молекуле *EF-1α*. Предполагаемая схема ченелинга в комплексе *EF-1H* — валил-тРНК синтетаза представлена на рис. 2.

Постулировано, что ченелинг тРНК при трансляции — это процесс, универсальный для всех аминоксил-тРНК синтетаз. Для проверки этой гипотезы логичным представлялось тестирование расширенного спектра синтетаз по их способности взаимодействовать с *EF-1α*. Недавно обнаружено, что активность ряда эукариотических аминоксил-тРНК синтетаз, не входящих в мультиферментные комплексы (серил-тРНК синтетаза, гистидил-тРНК синтетаза и цистеинил-тРНК синтетаза), также стимулируется в присутствии *EF-1α* (Т. В. Будкевич, Б. С. Негруцкий, А. В. Ельская, неопубликованные данные), что свидетельствует в пользу универсальности данного механизма ченелинга.

В то же время не было обнаружено стимулирующего действия *EF-1α* на активность аминоксил-тРНК синтетаз, входящих в мультисинтетазный комплекс (В. Ф. Шалак, М. Миранд, Б. С. Негруцкий, А. В. Ельская, неопубликованные данные; Д. Янг, частное сообщение). Весьма вероятно, что мультиферментный комплекс синтетаз организован таким образом, что имеет один или несколько

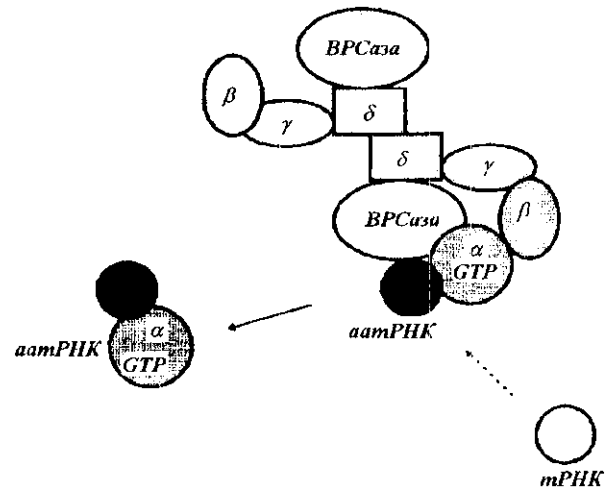


Рис. 2. Ченелинг тРНК в комплексе валил-тРНК синтетазы (VPSазы) с *EF-1αβγδ*. тРНК^{Val} взаимодействует с валил-тРНК синтетазой, находящейся в комплексе с *EF-1αβγδ*. Одновременно происходят ферментативный синтез валил-тРНК и GTP/GDP-обмен в молекуле *EF-1α*. Взаиморасположение валил-тРНК синтетазы и *EF-1α* в комплексе таково, что образовавшаяся валил-тРНК сразу же формирует комплекс с *EF-1α* — GTP. Этот комплекс диссоциирует в раствор и направляется к А сайту рибосомы

универсальных сайтов связывания *EF-1*, куда стекаются все аминоксил-тРНК разной специфичности, синтезированные в этом комплексе. Миранд предположил, что таким сайтом может быть белок мультисинтетазного комплекса *p18* [26]. Была обнаружена гомология первичной структуры белка *p18* и последовательности N-концевых участков β- и γ-субъединиц *EF-1H*.

Поскольку данные участки субъединиц фактора элонгации вовлечены в межсубъединичное взаимодействие и имеют гомологию с последовательностью валил-тРНК синтетазы, участвующей во взаимодействии с *EF-1H*, логично предположить, что белок *p18* может служить якорем для ассоциации мультисинтетазного комплекса с *EF-1H*, а *EF-1H*, в свою очередь, обеспечивать постоянный направленный приток *EF-1α* к мультисинтетазному комплексу.

Таким образом, нельзя исключить, что отсутствие стимуляторного эффекта *EF-1α* на активность аминоксил-тРНК синтетаз, входящих в мультиферментный комплекс, было вызвано просто отсутствием *EF-1H* в инкубационной смеси при проведении этих экспериментов.

Суммируя вышеизложенное, можно предположить следующую схему функционирования аппарата трансляции в режиме ченелинга тРНК (рис. 3). Фактор элонгации $EF-1\alpha$ служит челноком между рибосомами и макромолекулярным комплексом, объединяющим аминоксил-тРНК синтетазы и $EF-1H$. GDP-форма фактора доставляет тРНК от рибосомы к этому комплексу, GTP-форма — аминоксил-тРНК из этого же комплекса к рибосоме. Поскольку аминоксил-тРНК синтетазы и рибосомы, по-видимому, со-локализованы в клетке, в трансляционных компартментах наблюдается микрокомпарментализация $EF-1\alpha$, облегчающая ченелинг.

Необходимо особо отметить, что несколько преждевременно рассматривать возможное физиологическое значение стимуляции активности ами-

ноацил-тРНК синтетаз фактором элонгации $EF-1\alpha$ с точки зрения кинетических преимуществ механизма ченелинга и/или возможности повышения эффективности белкового синтеза. Представляется, что опыты *in vitro* все еще не позволяют убедительно интерпретировать имеющиеся данные в этом плане. Активирование аминоксил-тРНК синтетаз фактором элонгации $EF-1\alpha$ — это прежде всего доказательство функциональных взаимодействий между упомянутыми белками, обеспечивающих последовательную работу механизма ченелинга тРНК при синтезе белков.

Внутриклеточная организация ченелинга тРНК. Структурно-функциональная организация трансляционных компартментов непосредственно в клетках представляет собой особый интерес. Как обсуждалось выше, такие компартменты закрыты для экзогенной тРНК [11, 12, 17, 27]. Обнаружение комплексов цитоплазматической нуклеозиддифосфаткиназы с рибосомами [28, 29] и с фактором элонгации [28] свидетельствует о возможной компарментализации синтеза GTP, используемого для трансляции, непосредственно на рибосомах. Известно, что в белковом синтезе преимущественно используются экзогенные аминокислоты [30, 31], а не продукты катаболизма собственных белков клетки, т. е. не исключено существование специального канала для доставки экзогенных аминокислот в трансляционные компартменты клетки. Таким образом, выяснение структурной организации трансляционного компартмента, обеспечивающей эффективное его функционирование в режиме ченелинга, является весьма актуальным.

Поскольку основной переносчик тРНК в ходе белкового синтеза — это $EF-1\alpha$, внутриклеточная локализация этого белка и его взаимодействие с компонентами клеточной инфраструктуры могут дать важную информацию о трансляционных компартментах *in vivo*. Интересное развитие эта тема получила в последнее время в лаборатории Конделлиса. Ранее им же было показано, что $EF-1\alpha$ является одним из основных актин-связывающих белков [32]. Недавно обнаружено, что, с одной стороны, скручивание актиновых филаментов, вызванное $EF-1\alpha$, ингибирует полимеризацию актина на концах филаментов [33], а с другой — F-актин предохраняет $EF-1\alpha$ от взаимодействия с аминоксил-тРНК, и этот эффект очень зависит от внутриклеточного pH [34]. Таким образом, $EF-1\alpha$ может участвовать в координации полимеризации/деполимеризации актина и ускорения/замедления белкового синтеза, что, в свою очередь, может быть связано с формированием либо расформированием трансляционных компартментов. Предполагается,

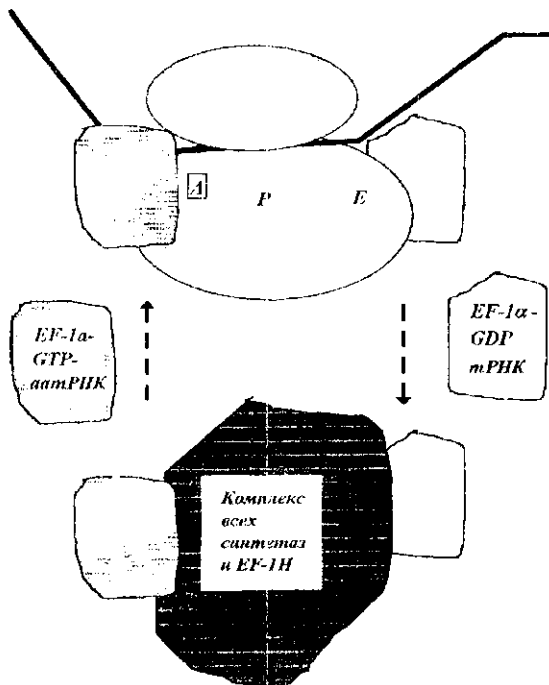


Рис. 3. Цикл комплекса $EF-1\alpha$ — тРНК. тРНК в E сайте рибосомы взаимодействует с $EF-1\alpha$ — GDP. Неканонический тройной комплекс теряет средство к рибосоме и взаимодействует с макромолекулярным агрегатом, содержащим стабильный мультисинтезазный комплекс, свободные аминоксил-тРНК синтетазы и $EF-1\alpha$ бд. Внутри мультисинтезазного ассоциата происходит синтез аминоксил-тРНК и GTP/GDP-обмен в $EF-1\alpha$. Образовавшийся канонический тройной комплекс уходит из комплекса и взаимодействует с A сайтом рибосомы

что ослабленное по сравнению с нормой сродство *EF-1 α* к F-актину в клетках аденокарциномы молочной железы крысы может быть связано с мета-статическими процессами посредством изменения структуры цитоскелета, приводящего к дифференциальной трансляции ассоциированных с цитоскелетом мРНК [35]. Не исключено, что видоизменение структуры цитоскелета в опухолевых клетках модифицирует структурную организацию трансляционных компартментов, обеспечивая избирательную трансляцию ассоциированных с метастазами мРНК.

В этой связи весьма интересным представляется недавнее наблюдение Дойчера и соавт. о прямой корреляции между эффективностью белкового синтеза и интактностью системы актиновых филаментов [36].

Таким образом, актиновые филаменты, по-видимому, играют большую роль в организации и регуляции ченелинга белкового синтеза в эукариотических клетках. О вовлеченности в этот процесс других компонентов цитоскелета и клеточных мембран на основании имеющихся данных судить трудно.

Специфическим для нервных клеток проявлением компартментализации аппарата трансляции может быть существование видимых в микроскоп гранул, содержащих различные компоненты белок-синтезирующей машины [37]. Более того, есть данные том, что такие гранулы участвуют также в транспорте и специфической локализации мРНК [38]. Поскольку общая концентрация компонентов аппарата трансляции в нейронах относительно невелика, нужда в их дискретной локализации легко объяснима [39].

Таким образом, в олигодендрокитах впервые удалось визуализировать некие макромолекулярные гранулы, в которых предположительно осуществляется белковый синтез. Неравномерное, точечное распределение в фибробластах человека α - и δ -субъединиц *EF-1H* [40] свидетельствует в пользу возможности визуального обнаружения трансляционных компартментов и в клетках другой специфичности. Изменение локализации *EF-1 α* при дефиците энергии, приводящем к полной остановке белкового синтеза [40], указывает на регуляторный потенциал структурной реорганизации трансляционного компартмента.

Направления дальнейших исследований в области ченелинга тРНК включают выяснение механизмов прямой передачи тРНК в цикле трансляции на молекулярном и субклеточном уровнях, изучение возможного регуляторного значения организации трансляционных компартментов как для обще-

го уровня белкового синтеза, так и для трансляции специфических мРНК при различных изменениях в жизнедеятельности организма.

Автор глубоко признателен А. В. Ельской за полезные идеи и дискуссии и высоко ценит заинтересованное участие З. М. Петрушенко, В. Ф. Шалака и Т. В. Будкевич в экспериментальном развитии идеи ченелинга в белковом синтезе. Экспериментальная работа автора, описанная в этой статье, поддерживалась грантами 5.2/130, 5.4/73 ГКНТ Украины, стипендиями FEBS и EMBO, грантом INTAS 96—1594.

Б. С. Негруцкий

Ченелинг у білковому синтезі

Резюме

Здійснено огляд літературних та отриманих автором даних стосовно ченелінгу тРНК в еукаріотичному білковому синтезі. Запропоновано гіпотезу щодо ролі GDP- і GTP-форм фактора елонгації 1 α у переносі тРНК/аміноацил-тРНК між компонентами апарату трансляції.

B. Negrutskii

Channeling in protein synthesis

Summary

Own and literature data concerning channeling of tRNA in eukaryotic protein synthesis are reviewed. The hypothesis about the role of GDP and GTP-bound forms of EF-1 α in the transfer of tRNA along protein synthetic chain is proposed.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ottaway J. H. Compartmentation: model and reality // *Biochem Soc. Trans.*—1983.—11.—P. 47—53.
2. Ottaway J. R. Comments on metabolic compartmentation and soluble metabolic pathways // *BioEssays.*—1984.—1.—P. 283—284.
3. Srere P. A. Complexes of sequential metabolic enzymes // *Annu. Rev. Biochem.*—1987.—56.—P. 89—124.
4. Fell D. Understanding the control of metabolism / Ed. K. Snell.—London-Miami: Portland press, 1997.
5. Spivey H. O., Merz J. M. Metabolic compartmentation // *BioEssays.*—1989.—10, N 4.—P. 127—130.
6. Спирин А. С. Энергетика и динамика белоксинтезирующего аппарата // *Успехи биол. химии.*—1989.—30.—С. 3—24.
7. Deutscher M. P. The eukaryotic aminoacyl-tRNA synthetase complex: suggestions for its structure and function // *J. Cell Biol.*—1984.—99.—P. 373—377.
8. Ryazanov A. G., Ovchinnikov L. P., Spirin A. S. Development of structural organization of protein-synthesizing machinery from prokaryotes to eukaryotes // *Biosystems.*—1987.—20.—P. 275—288.
9. Негруцкий Б. С. Транспортная РНК как фактор регуляции белкового гомеостаза // *Биополимеры и клетка.*—1989.—5, № 5.—С. 5—18.
10. Negrutskii B. S., Deutscher M. P. Channeling of aminoacyl-tRNA for protein synthesis *in vivo* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1991.—88.—P. 4991—4995.

11. Negrutskii B. S., Stapulionis R., Deutscher M. P. Supramolecular organization of the mammalian translation system // *Ibid.*—1994.—91.—P. 964—968.
12. Negrutskii B. S., Deutscher M. P. A sequestered pool of aminoacyl-tRNA in mammalian cells // *Ibid.*—1992.—89.—P. 3603—3604.
13. Robertson J. M., Wintermeyer W. Mechanism of ribosomal translocation. tRNA binds transiently to an exit site before leaving the ribosome during translocation // *J. Mol. Biol.*—1987.—196, N 3.—P. 525—540.
14. Graf H. Interaction of aminoacyl-tRNA synthetases with ribosomes and ribosomal subunits // *Biochim. et biophys. acta.*—1976.—425, N 2.—P. 175—184.
15. Сава Сапа, Мозуряйтис П. Ю., Харченко О. В. и др. Взаимодействие эукариотических аминоацил-тРНК синтетаз с рибосомами // *Биополимеры и клетка.*—1992.—8, № 1.—С. 101—108.
16. Kudlicki W., Coffman A., Kramer G., Hardesty B. Ribosomes and ribosomal RNA as chaperones for folding of proteins // *Folding and Design.*—1997.—2.—P. 101—108.
17. Stapulionis R., Deutscher M. A channeled tRNA cycle during mammalian protein synthesis // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1995.—92.—P. 7158—7161.
18. Petrushenko Z. M., Negrutskii B. S., Ladokhin A. V. et al. Evidence for the formation of an unusual ternary complex of rabbit liver tRNA with GDP and deacylated tRNA // *FEBS Lett.*—1997.—407.—P. 13—17.
19. Negrutskii B. S., Budkevich T. V., Shalok V. F. et al. Rabbit translation elongation factor 1 α stimulates the activity of homologous aminoacyl-tRNA synthetase // *FEBS Lett.*—1996.—382.—P. 18—20.
20. Nissen P., Kjeldgaard M., Thirup S. et al. Crystal structure of the ternary complex of Phe-tRNA^{Phe}, EF-Tu, and a GTP analog // *Science.*—1995.—270.—P. 1464—1472.
21. Goldgur Y., Mosyak L., Reshetnikova L. et al. The crystal structure of phenylalanyl-tRNA synthetase from *Thermus thermophilus* complexed with cognate tRNA^{Phe} // *Structure.*—1997.—5.—P. 59—68.
22. Reed V. S., Wastney M. E., Yang D. C. H. Mechanisms of the transfer of aminoacyl-tRNA from aminoacyl-tRNA synthetase to the elongation factor 1 α // *J. Biol. Chem.*—1994.—269, N 52.—P. 32932—32936.
23. Kudlicki W., Coffman A., Kramer G., Hardesty B. Renaturation of rhodanese by translation elongation factor (EF) Tu // *Ibid.*—1997.—272, N 51.—P. 32206—32210.
24. Bec G., Kerjan P., Zha X. D., Waller J. P. Valyl-tRNA synthetase from rabbit liver // *Ibid.*—1989.—264, N 35.—P. 21131—21137.
25. Bec G., Kerjan P., Waller J.-P. Reconstitution *in vitro* of the valyl-tRNA synthetase-elongation factor (EF) 1 $\beta\gamma\delta$ complex // *Ibid.*—1994.—269.—P. 2086—2092.
26. Mirande M., Quevillon S. The p18 component of the multisynthetase complex shares a protein motif with the β and γ subunits of eukaryotic elongation factor 1 // *FEBS Lett.*—1996.—395.—P. 63—67.
27. Varricchio F., Uziel M. Comparison of supernatant and ribosome-bound rat liver tRNA // *Biochem. Int.*—1992.—28, N 6.—P. 1039—1044.
28. Mukhopadhyay S., Shankar S., Walden W., Chakrabarty A. M. Complex formation of the elongation factor Tu from *Pseudomonas aeruginosa* with nucleoside diphosphate kinase modulates ribosomal GTP synthesis and peptide chain elongation // *J. Biol. Chem.*—1997.—272, N 28.—P. 17815—17820.
29. Sonnermann J., Mutzel R. Cytosolic nucleoside diphosphate kinase associated with the translation apparatus may provide GTP for protein synthesis // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1995.—209.—P. 490—496.
30. Hod Y., Hershko A. Relationship of the pool of intracellular valine to protein synthesis and degradation in cultured cells // *J. Biol. Chem.*—1976.—251.—P. 4458—4467.
31. Gerhke L., Ilan J. Preferential utilization of exogenously supplied leucine for protein synthesis in estradiol-induced and uninduced cockerel liver explants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1983.—80.—P. 3274—3278.
32. Yang F., Demma M., Warren V. et al. Identification of an actin-binding protein from *Dyctyostelium* as elongation factor 1 α // *Nature.*—1991.—347.—P. 494—496.
33. Murray J. W., Edmonds B. T., Liu G., Condeelis J. Bundling of actin filaments by elongation factor 1 α inhibits polymerization at filaments ends // *J. Cell Biol.*—1991.—135, N 5.—P. 1309—1321.
34. Liu G., Tang J., Edmonds B. T. et al. F-actin sequesters elongation factor 1 α from interaction with aminoacyl-tRNA in a pH-dependent reaction // *Ibid.*—1996.—135, N 4.—P. 953—963.
35. Edmonds B. T., Wyckoff J., Yeung Y. et al. Elongation factor-1 α is an overexpressed actin-binding protein in metastatic rat mammary adenocarcinoma // *J. Cell Sci.*—1996.—109.—P. 2705—2714.
36. Stapulionis R., Kollis S., Deutscher M. P. Efficient mammalian protein synthesis requires an intact F-actin system // *J. Biol. Chem.*—1997.—272, N 40.—P. 24980—24986.
37. Barbarese E., Koppel D. E., Deutscher M. P. et al. Protein translation components are colocalized in granules in oligodendrocytes // *J. Cell Sci.*—1995.—108.—P. 2781—2790.
38. Ainger K., Avossa D., Diana A. S. et al. Transport and localization elements in myelin basic protein mRNA // *J. Cell Biol.*—1997.—138, N 5.—P. 1077—1087.
39. Tiede H., Brosius J. Translation machinery in dendrites of hippocampal neurons in culture // *J. Neurosci.*—1996.—16, N 22.—P. 7171—7181.
40. Негруцкий Б. С. The effect of phosphocreatine on the distribution of different subunits of translation elongation factor 1 in gently permeabilized human fibroblasts // *Биополимеры и клетка.*—1997.—13, № 5.—С. 380—386.

Поступила в редакцию 25.02.98