

UDC 577.217.32

Роль тРНК^{Pro} в претрансферном редактировании аланина пролил-тРНК синтетазой

К. С. Бояршин, А. Е. Присс, И. А. Крикливый, О. П. Коваленко,
А. Д. Яремчук, М. А. Тукало

Государственная ключевая лаборатория молекулярной и клеточной биологии,
Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, Украина, 03680

kboyarshin@mail.ru

Цель. Охарактеризовать процесс тРНК-зависимого претрансферного редактирования аланина пролил-тРНК синтетазой бактерии *Enterococcus faecalis* (ПроРСЕf). **Методы.** Скорость процессов редактирования *in vitro* определяли по гидролизу АТФ ПроРСЕf. Пре- и посттрансферное редактирование разделены экспериментально сайт-направленным мутагенезом. **Результаты.** тРНК-зависимое претрансферное редактирование характеризуется втрое большей скоростью, чем тРНК-независимое. Эффективность процесса зависит от наличия 2'-гидроксильной группы А76 тРНК^{Pro}. В отсутствие тРНК^{Pro} параллельно с тРНК-независимым претрансферным редактированием происходит высвобождение аланил-АМФ из активного центра ПроРСЕf с возможностью вторичного связывания и гидролиза. **Выводы.** тРНК-зависимое претрансферное редактирование аланина ПроРСЕf является каталитическим механизмом, опосредованным 2'-гидроксильной группой А76 тРНК^{Pro}. В отсутствие тРНК^{Pro} действуют механизмы тРНК-независимого претрансферного редактирования и селективного высвобождения аланил-АМФ.

Ключевые слова: редактирование, пролил-тРНК синтетаза, биосинтез белка.

Введение. Аминоацил-тРНК синтетазы (АРСазы) катализируют активацию аминокислот с образованием аминоацил-аденилатов и перенос аминокислотных остатков на тРНК. От точности синтеза аминоацил-тРНК зависит точность синтеза полипептидной цепи на рибосоме [1]. Допустимый уровень ошибок в этом процессе не превышает 10^{-3} – 10^{-4} [2, 3]. Столь высокая точность не во всех случаях может обеспечиваться одним лишь специфическим связыванием аминокислоты в активном центре фермента, так как энергия связывания стерически и химически похожих аминокислот по необходимости оказывается близкой [4, 5].

В работе [6] Ферштом предложена модель «двойного сита», предусматривающая последовательное узнавание субстратов в двух активных центрах од-

ного фермента. Аминокислотный остаток аминокислот-тРНК, синтезированной в результате ошибочного узнавания аминокислоты в аминокисляющем активном центре, специфически узнается и гидролизуется в особом, редактирующем активном центре. Такая модель нашла экспериментальное подтверждение для ряда АРСаз [7–9]. Специфический гидролиз ошибочных аминокислот-тРНК АРСазами получил название посттрансферного редактирования.

Однако отсеивание ошибочно активированных аминокислотных остатков возможно и на этапе промежуточных продуктов – аминоацил-аденилатов. Этот процесс известен как претрансферное редактирование [10, 11]. В отличие от посттрансферного он может происходить непосредственно в аминокисляющем активном центре, что не укладывается в классическую схему «двойного сита».

© Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, 2013

Пролил-тРНК синтетазы (ПроРС) бактериального типа способны ошибочно активировать аланин [12] и цистеин [13, 14]. Продукты активации аланина редактируются ими как пост-, так и претрансферно [12]. Цель нашей работы состояла в изучении влияния тРНК на процессы, связанные с претрансферным редактированием ПроРС эубактерии *Enterococcus faecalis* (ПроРС*Ef*).

На гомологичном ферменте *Escherichia coli* ранее показано наличие трех независимых редактирующих механизмов. Первый и основной – это посттрансферное редактирование в активном центре редактирующего домена (INS). Второй, не требующий участия тРНК, – это претрансферное редактирование в аминокацилирующем активном центре [12]. Третий, наименее значимый, и не требующий специальной каталитической активности фермента, – это селективное высвобождение аланил-аденилата в раствор, обусловленное его меньшим сродством к аминокацилирующему активному центру, чем у пролил-аденилата [15, 16].

Посттрансферное редактирование изучено нами ранее при помощи теста на деацилирование аланил-тРНК^{ProAla} [17]. Для этого подобрана мутантная форма ПроРС*Ef* K279A, характеризующаяся практическим отсутствием посттрансферной редактирующей активности. Использование такой мутантной формы в тесте на накопление АМФ позволило нам экспериментально разделить посттрансферное редактирование и тРНК-зависимое претрансферное редактирование [18]. Влияние тРНК на претрансферное редактирование ПроРС*Ef* показано впервые для АРСазы второго класса, чего не наблюдалось для гомологичного фермента *E. coli* [12, 16]. Представляемая статья является результатом дальнейшего изучения этого феномена.

Материалы и методы. Материалы. В работе использовали 2'-дезоксаденозин 5'-трифосфат, 3'-дезоксаденозин 5'-трифосфат, фосфодиэстеразу I яда *Crotalus adamanteus* («Sigma», США), радиоактивно меченные вещества («Amersham», США), стекловолоконные фильтры («Whatman», США) и ПЭИ-целлюлозные пластины для тонкослойной хроматографии («Merck», США).

Получение препаратов макромолекул. Препаративное выделение ПроРС*Ef*, ее мутантных форм, а

также нативной тРНК^{Pro} *Rhodopseudomonas palustris* с антикодоном CGG (тРНК^{Pro} *Rp*) описано нами ранее [18]. Пепараты транскрипта тРНК^{Pro} *Ef* с антикодоном UGG готовили, как описано в [19].

Получение модифицированных тРНК^{Pro}. Методика включает отщепление ССА-конца тРНК^{Pro} *Rp* при помощи фосфодиэстеразы яда *C. adamanteus* и достраивание ССА-конца с соответствующим производным аденина при помощи терминальной тРНК-нуклеотидилтрансферазы *Bacillus stearothermophilus*. Реакционная смесь для отщепления ССА-конца тРНК содержала 50 мМ трис-НСl, рН 8,0, 10 мМ MgCl₂, 0,32 мг/мл тРНК и 15 мМ фосфодиэстеразу. После 15 мин инкубации при комнатной температуре смесь экстрагировали фенолом и обработанную тРНК осаждали этанолом. Следовые количества необработанной тРНК удаляли ионообменной хроматографией высокого давления на колонке VAX 1S фирмы «Dionex» (США). Очищенную тРНК с удаленным ССА-концом ренатурировали плавлением и отжигом в объеме остывающей воды.

Реакционная смесь для достраивания модифицированного ССА-конца тРНК содержала 100 мМ глицин-NaOH, рН 9,0, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ ДТТ, 15 мкМ тРНК без ССА, 100 мкМ СТР, 2 мМ 2'-d-АТР или 2'-F-АТР, 5 мкМ терминальную тРНК-нуклеотидилтрансферазу. После 30 мин инкубации при температуре 60 °С обработанную тРНК осаждали этанолом.

Для очистки модифицированной тРНК препарат наносили на 8 %-й ПААГ в присутствии 7 М мочевины и вырезали полосу геля, содержащую тРНК, под ультрафиолетовым освещением. Затем тРНК экстрагировали из геля тремя объемами буферного раствора, содержащего 0,5 М NH₄Ac, рН 5,5, 0,1 М ЭДТА, 0,1 % ДСН. Частицы геля удаляли повторным центрифугированием при 6000 об/мин в течение 15 мин, модифицированную тРНК из осветленного раствора осаждали этанолом.

Определение накопления АМФ. Реакционная смесь содержала 0,1 М HEPES, рН 7,5, 10 мМ MgCl₂, 0,5 М аланин, 2 мМ ДТТ, 1 мМ АТФ, следовые количества ³²P-АТФ или ¹⁴C-АТФ. Также добавляли нативную тРНК^{Pro} *Rp* (CGG), 2'-d или 3'-d A76 производные нативной тРНК^{Pro} *Rp* или транскрипт тРНК^{Pro} *Ef* (UGG) в концентрации 15 мкМ, или от 0,25 до 80 мкМ тРНК^{Pro} *Rp* для изучения зависимости скоро-

Наблюдаемые константы скорости накопления АМФ в ходе редактирования *ПроРСЕf* против аланина

k_{obs}, c^{-1}			
Суммарное редактирование (дикий тип ПроРС + тРНК ^{Про})	тРНК-зависимое претрансферное редактирование (ПроРС K279A + тРНК ^{Про})	тРНК-независимое претрансферное редактирование (дикий тип ПроРС без тРНК)	Неферментативный гидролиз аланил-аденилата
0,433 ± 0,065	0,131 ± 0,014	0,039 ± 0,013	(7,8 ± 1,7) · 10 ⁻⁴

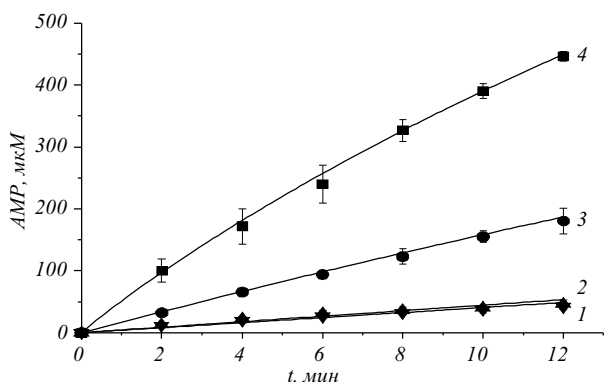


Рис. 1. Накопление АМФ в результате процессов редактирования: тРНК-независимое претрансферное редактирование в присутствии дикого типа ПроРС без тРНК (1) и ПроРС K279A без тРНК (2); тРНК-зависимое претрансферное редактирование в присутствии ПроРС K279A и тРНК^{Про} Rp (3); Пре- и посттрансферное редактирование в присутствии дикого типа ПроРС и тРНК^{Про} Rp (4)

сти редактирования от концентрации тРНК. Реакцию запускали добавлением *ПроРСЕf* дикого типа или мутантной формы *ПроРСЕf* K279A в концентрации 2 мкМ. Для сравнения скоростей претрансферного редактирования в присутствии нативной тРНК^{Про} Rp и ее 2'-d A76 производного их препараты добавляли к смесям, содержащим *ПроРСЕf* K279A в концентрации соответственно 0,5 и 20 мкМ. Смесь инкубировали при температуре 37 °С и отбирали аликвоты по 2, 5 мкл, наносили их на ПЭИ-целлюлозу для разделения АТФ, АМФ и аланил-аденилата. Тонкослойную хроматографию проводили в 200 мМ КAc (рН 5,2). Результаты разделения визуализировали на фосфоимиджере Phorag FX («BioRad», США).

Количества радиоактивно меченных веществ определяли по калибровочным графикам, полученным с использованием сцинтилляционного счетчика радиоактивности.

Анализ гидролиза аланил-АМФ. Ферментативный гидролиз аланил-АМФ *ПроРСЕf* в присутствии тРНК^{Про} изучали следующим образом. Реакционную смесь, содержащую 0,1 М НЕРЕС, рН 7,5, 10 мМ

MgCl₂, 0,5 М аланин, 2 мМ ДТТ, 0,16 мМ АТФ и следовые количества ³²P-АТФ, инкубировали при температуре 37 °С в течение 10 мин с *ПроРСЕf* дикого типа или соответствующей мутантной формой фермента для накопления аланил-аденилата. Затем добавляли нативную тРНК^{Про} Rp до концентрации 11,5 мкМ, отбирали аликвоты по времени, разделяли и анализировали их, как указано для теста на гидролиз АТФ.

Для изучения неферментативного гидролиза аланил-АМФ к реакционной смеси после инкубации в течение 10 мин добавляли пролил-сульфамойладенилат до концентрации 273 мМ для конкурентного вытеснения аланил-АМФ из активных центров *ПроРСЕf*. Пробы отбирали и анализировали аналогичным образом.

Аминоацилирование тРНК^{Про}. тРНК^{Про} аминоацелировали в реакционной смеси, содержащей 0,1 М НЕРЕС, рН 7,5, 20 мМ MgCl₂, 3 мМ АТФ, 70 мкМ ¹⁴C-пролин, 20–30 мкМ тРНК^{Про}. Концентрация *ПроРСЕf* варьировала от 3 до 15 нМ. Смесь инкубировали при $t = 37\text{ °C}$ и отбирали аликвоты по 10 мкл, добавляли их в 200 мкл 10 %-й ТХУ для остановки реакции. Сформировавшиеся осадки ¹⁴C-пролил-тРНК^{Про} переносили на стекловолоконные фильтры и исследовали на сцинтилляционном счетчике.

Результаты и обсуждение. *Характеристика тРНК-зависимого претрансферного редактирования ПроРСЕf.* В экспериментах *in vitro* распад и повторный синтез продуктов, подлежащих редактированию, приводит к постоянному расходу АТФ и накоплению АМФ в реакционной смеси независимо от того, каким образом происходит редактирование [20]. Аминокислота и тРНК при этом не расходуются, позволяя изменяться концентрации только одного из субстратов. Метод, основанный на накоплении АМФ, применен нами для изучения путей редактирования *ПроРСЕf* продуктов ошибочного узнавания аланина.

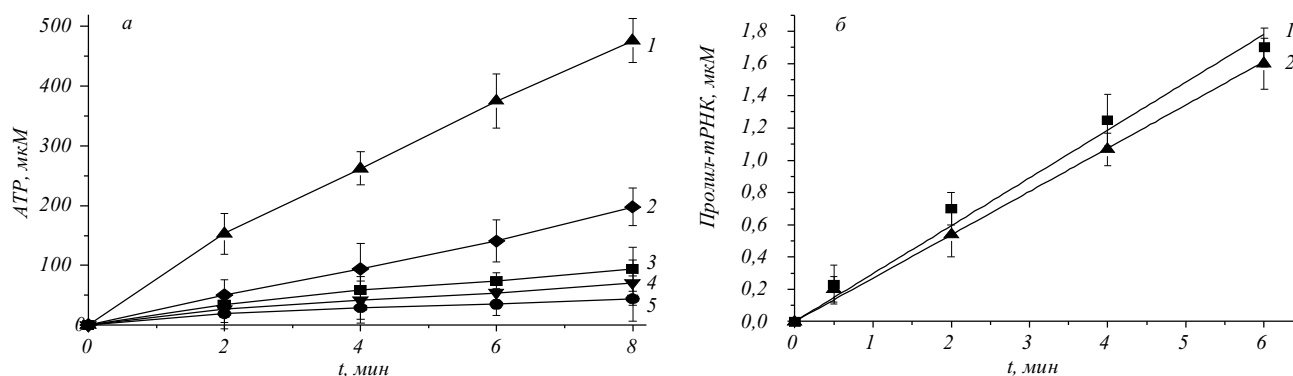


Рис. 2. Биохимические свойства транскрипта тРНК^{Pro} *E. faecalis*: а – накопление АМФ в присутствии дикого типа ПроРС и тРНК^{Pro} *Rp* (1); ПроРС К279А и тРНК^{Pro} *Rp* (2); дикого типа ПроРС и тРНК^{Pro} *Ef* (3); ПроРС К279А и тРНК^{Pro} *Ef* (4); дикого типа ПроРС без тРНК (5); б – аминоацилирование пролином транскрипта тРНК^{Pro} *Ef* (1) и тРНК^{Pro} *Rp* (2)

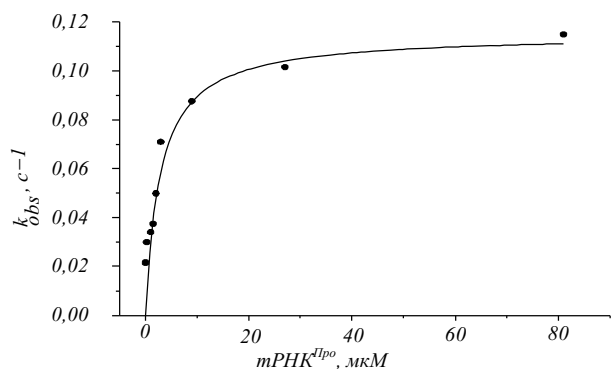


Рис. 3. Зависимость наблюдаемой константы скорости накопления АМФ в ходе тРНК-зависимого претрансферного редактирования от концентрации тРНК^{Pro} *Rp*

В присутствии нативной тРНК^{Pro} *Rp* и мутантной формы ПроРС *Ef* К279А скорость накопления АМФ втрое больше, чем в аналогичной смеси без тРНК (рис. 1, таблица). В присутствии фермента дикого типа и нативной тРНК^{Pro} *Rp* скорость аккумуляции продукта возрастает еще втрое (таблица) за счет подключения посттрансферного редактирования, заблокированного в мутантной форме. В то же время транскрипт тРНК^{Pro} *Ef* не ускоряет накопления АМФ сколько-нибудь существенно как в случае с диким типом фермента, так и с мутантной формой (рис. 2, а). Начальная скорость аминоацилирования обеих тРНК при этом практически одинакова (рис. 2, б).

Скорость накопления АМФ в присутствии ПроРС *Ef* К279А зависит от концентрации нативной тРНК^{Pro} *Rp*, приближающейся к насыщению в области около 30 μM при концентрации фермента 2 μM (рис. 3).

Помимо накопления АМФ, в отсутствие тРНК (а также в присутствии транскрипта тРНК^{Pro} *Ef*) наблюдается аккумуляция аланил-АМФ, чего не происходит в присутствии нативной тРНК^{Pro} *Rp* (рис. 4). Добавление нативной тРНК в реакционную смесь вызывает экспоненциальное падение концентрации аланил-АМФ. Дикий тип фермента и мутантные формы К279А и Н366А, несущие мутации в редактирующем домене, ведут себя в этом процессе подобным образом (рис. 5).

Сравнение наблюдаемых констант скорости накопления АМФ со скоростью спонтанного гидролиза аланил-аденилата в аналогичном растворе (таблица) показало, что как тРНК-зависимое, так и тРНК-независимое редактирование ПроРС *Ef* являются каталитическими процессами и не сводятся к избирательному высвобождению аланил-аденилата из активного центра фермента.

Роль гидроксильных групп А76 тРНК^{Pro} в претрансферном редактировании. Ранее нами показана неспособность к индукции тРНК-зависимого претрансферного редактирования нативной тРНК^{Pro} *Rp*, окисленной периодатом натрия [18]. Обработка этим реагентом приводит к разрыву пентозного кольца рибозы А76 и вхождению кислорода 2'- и 3'-гидроксильных групп в состав карбоксильных групп [21]. Для проверки роли гидроксильных групп рибозы А76 тРНК^{Pro} в индукции редактирования нами получены 2'- и 3'-dA76 производные тРНК^{Pro} *Rp*, характеризующиеся многократно сниженной способностью к ускорению гидролиза АТФ в соответствующем тесте. У ПроРС, как и у большинства АРСаз 2-го клас-

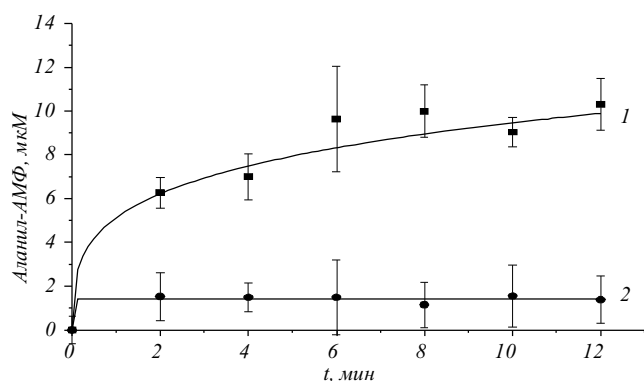


Рис. 4. Селективное высвобождение аланил-АМФ из активного центра ПроРС в отсутствие тРНК (1) и в присутствии нативной тРНК^{Pro} Rp (2)

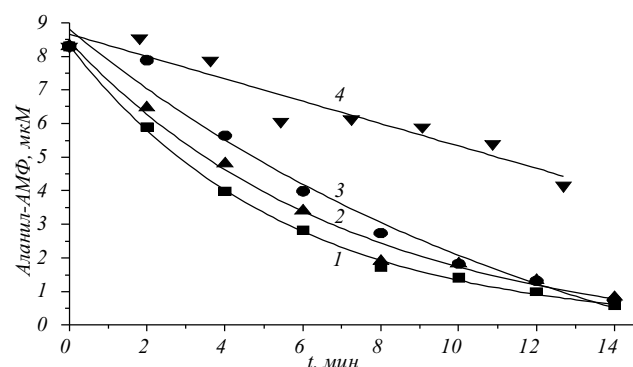


Рис. 5. Гидролиз аланил-АМФ ПроРС Ef диким типом ПроРС в присутствии тРНК^{Pro} Rp (1); ПроРС H366A в присутствии тРНК^{Pro} Rp (2); ПроРС K279A в присутствии тРНК^{Pro} Rp (3); диким типом ПроРС без тРНК (4)

са, 2'-гидроксильная группа А76 не участвует непосредственно в реакции аминокислотирования, что позволило нам проверить специфическую роль этой группы в претрансферном редактировании, сравнив падение скорости аминокислотирования и редактирования при ее удалении. Скорость претрансферного редактирования в результате модификации тРНК уменьшается примерно в 90 раз (рис. 6, а), а при снижении скорости аминокислотирования – в 3–4 раза (рис. 6, б).

тРНК-зависимое претрансферное редактирование представляет собой относительно небольшой, но статистически достоверный эффект, самостоятельный по отношению к процессам активации аминокислоты, ее переноса на тРНК и селективного высвобождения аланил-аденилата. Наличие и величина этого эффекта зависят от структурных особенностей бактериальной тРНК^{Pro}: ее последователь-

ности [18] и, возможно, посттранскрипционных модификаций. Оба фактора затрагивают пространственную структуру тРНК^{Pro}, что, в свою очередь, может сказываться на положении ее 3'-конца в активном центре фермента. В данной работе транскрипт тРНК^{Pro} Ef не проявил способности к индукции претрансферного редактирования. Таким образом, отсутствие тРНК-зависимого редактирования у ПроРС Ec в присутствии транскрипта тРНК^{Pro} Ec [12, 16] согласуется с полученными нами результатами. Так или иначе, вопрос об осуществлении бактериальными ПроРС тРНК-зависимого претрансферного редактирования *in vivo* остается открытым. Наблюдаемый эффект может отражать как актуальный механизм, участвующий в обеспечении точности синтеза пролил-тРНК^{Pro}, так и рудимент механизма, имевшего значение в живой клетке до появления эффективного посттрансферного редактирования.

И тРНК-зависимое, и тРНК-независимое претрансферное редактирование ПроРС Ef являются каталитическими процессами, скорость которых многократно превышает таковую неферментативного гидролиза аланил-аденилата в растворе (таблица). Несмотря на это, селективное высвобождение аланил-аденилата имеет место в отсутствие тРНК^{Pro}. Параллельно с высвобождением ошибочно синтезированного продукта происходит его вторичное связывание и гидролиз в активном центре фермента. Равновесие между этими процессами, а также неферментативным гидролизом аланил-аденилата определяет стабильно низкую концентрацию последнего в реакционной смеси. В присутствии нативной тРНК^{Pro} накопления аланил-аденилата в смеси не происходит, и его концентрация не превышает таковую активных центров фермента (рис. 4). При добавлении тРНК в реакционную смесь, содержащую аланил-аденилат, концентрация последнего быстро падает, что отражает ускорение его гидролиза ПроРС Ef (рис. 5). Этот результат прямо указывает на роль тРНК^{Pro} в гидролизе аланил-аденилата. Его кинетика в присутствии тРНК^{Pro} сходна для дикого типа ПроРС и мутантных форм, несущих поврежденный редактирующий активный центр INS-домена [17] (рис. 5), что свидетельствует о неучастии механизма посттрансферного редактирования к этому процессу.

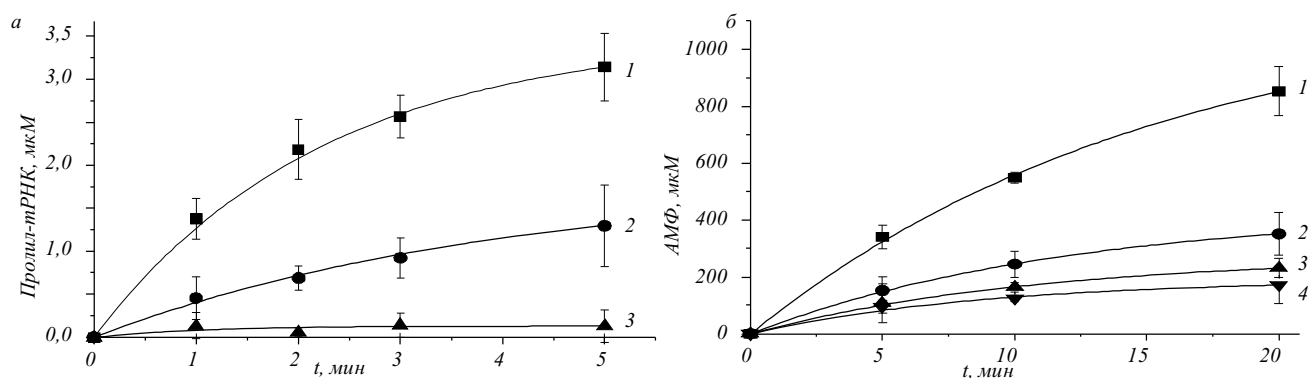


Рис. 6. Биохимические свойства 2'-dA76 тРНК^{Pro}Rp: а – аминокислотирование тРНК^{Pro}Rp (1) и 2'-d тРНК^{Pro}Rp (2) пролином, контрольный эксперимент без ПроРС (3); б – накопление АМФ в присутствии 0,5 мкМ ПроРСЕф и тРНК^{Pro}Rp (1); 20 мкМ ПроРСЕф и 2'-d тРНК^{Pro}Rp (2); 20 мкМ ПроРСЕф и тРНК^{Pro}Rp без 74-ССА-76 (3); 20 мкМ ПроРСЕф без тРНК (4)

Эффективная индукция претрансферного редактирования невозможна в отсутствие 2'-гидроксильной группы рибозы А76 тРНК^{Pro}. Ее удаление оказывает на порядок большее влияние на индукцию редактирования, чем на скорость аминокислотирования модифицированной тРНК^{Pro} (рис. 6, а, б). Следовательно, роль 2'-ОН не может ограничиваться связыванием А76 в активном центре ПроРСЕф или индукцией конформационных изменений, одинаково важных для редактирования и аминокислотирования. Таким образом, с большой долей уверенности можно предположить, что эта химическая группа выполняет функцию запуска каталитического механизма гидролиза аланил-аденилата в ходе тРНК-зависимого претрансферного редактирования.

Выводы. тРНК-зависимое претрансферное редактирование аланина ПроРСЕф является каталитическим механизмом, опосредованным 2'-гидроксильной группой А76 тРНК^{Pro}. В отсутствие тРНК^{Pro} действуют механизмы тРНК-независимого претрансферного редактирования и селективного высвобождения аланил-АМФ.

K. S. Boyarshin, A. E. Priss, I. A. Kriklyviy, O. P. Kovalenko, A. D. Yaremchuk, M. A. Tukalo

The role of tRNA^{Pro} in pretransfer editing of alanine by prolyl-tRNA synthetase

State Key laboratory of Molecular and Cellular Biology
Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
150, Akademika Zabolotnoho Str., Kyiv, Ukraine, 03680

Summary

Aim. To characterize the process of tRNA-dependent pretransfer editing of alanine by prolyl-tRNA synthetase of bacteria *Enterococcus*

faecalis (ProRS Ef). **Methods.** Velocity of the editing processes in vitro was determined by ATP hydrolysis by ProRS Ef. Pretransfer and post-transfer editing were experimentally separated by site-directed mutagenesis. **Results.** tRNA-dependent pretransfer editing is characterized by three-fold higher velocity than tRNA-independent one. The efficiency of the process depends on the presence of 2'-hydroxyl group of A76 tRNA^{Pro}. In the absence of tRNA^{Pro} selective release of alanyl-AMP occurs simultaneously with tRNA-independent pretransfer editing. Released alanyl-AMP can be re-bound and hydrolyzed. **Conclusions.** tRNA-dependent pretransfer editing of alanine by ProRS Ef is the catalytic mechanism mediated by 2'-hydroxyl group of A76 tRNA^{Pro}. In the absence of tRNA^{Pro} tRNA-independent pretransfer editing and selective release of alanyl-AMP occurs.

Keywords: editing, prolyl-tRNA synthetase, protein synthesis.

K. S. Boyarshin, A. E. Priss, I. A. Kriklyviy, O. P. Kovalenko, G. D. Yaremchuk, M. A. Tukalo

Роль тРНК^{Pro} у претрансферному редагуванні аланіну проліл-тРНК синтетазою

Резюме

Мета. Охарактеризувати процес тРНК-залежного претрансферного редагування аланіну проліл-тРНК синтетазою бактерії *Enterococcus faecalis* (ПроРСЕф). **Методи.** Швидкість процесів редагування in vitro визначали за гідролізом АТФ ПроРСЕф. Пре- і посттрансферне редагування експериментально розділено сайт-спрямованим мутагенезом. **Результати.** тРНК-залежне претрансферне редагування характеризується втричі більшою швидкістю, ніж тРНК-незалежне. Ефективність процесу залежить від наявності 2'-гідроксильної групи А76 тРНК^{Pro}. За відсутності тРНК^{Pro} паралельно з тРНК-незалежним претрансферним редагуванням відбувається вивільнення з активного центра ПроРСЕф аланіл-АМФ з можливістю вторинного зв'язування і гідролізу. **Висновки.** тРНК-залежне претрансферне редагування аланіну ПроРСЕф є каталітичним механізмом, опосередкованим 2'-гідроксильною групою А76 тРНК^{Pro}. За відсутності тРНК^{Pro} діють механізми тРНК-незалежного претрансферного редагування і селективного вивільнення аланіл-АМФ.

Ключові слова: редагування, проліл-тРНК синтетаза, біосинтез білка.

REFERENCES

1. *Ibba M., Soll D.* Aminoacyl-tRNA synthesis // *Annu. Rev. Biochem.*—2000.—**69**.—P. 617–650.
2. *Lofffield R. B., Vanderjagt D.* The frequency of errors in protein biosynthesis // *Biochem. J.*—1972.—**128**, N 5.—P. 1353–1356.
3. *Jakubowski H., Goldman E.* Editing of errors in selection of amino acids for protein synthesis // *Microbiol. Rev.*—1992.—**56**, N 3.—P. 412–429.
4. *Pauling L.* The probability of errors in the process of synthesis of protein molecules.—Festschrift Arthur Stoll.—Basel: Birkhauser, 1957.—597 p.
5. *Fersht A. R., Shindler J. S., Tsui W. C.* Probing the limits of protein-amino acid side chain recognition with the aminoacyl-tRNA synthetases. Discrimination against phenylalanine by tyrosyl-tRNA synthetases // *Biochemistry.*—1980.—**19**, N 24.—P. 5520–5524.
6. *Fersht A. R.* Editing mechanisms in protein synthesis. Rejection of valine by the isoleucyl-tRNA synthetase // *Biochemistry.*—1977.—**16**, N 5.—P. 1025–1030.
7. *Lincecum T. L. Jr., Tukalo M., Yaremchuk A., Mursinna R. S., Williams A. M., Sproat B. S., Van Den Eynde W., Link A., Van Calenbergh S., Grotli M., Martinis S. A., Cusack S.* Structural and mechanistic basis of pre- and posttransfer editing by leucyl-tRNA synthetase // *Mol. Cell.*—2003.—**11**, N 4.—P. 951–963.
8. *Dock-Bregeon A. C., Rees B., Torres-Larios A., Bey G., Caillet J., Moras D.* Achieving error-free translation; the mechanism of proofreading of threonyl-tRNA synthetase at atomic resolution // *Mol. Cell.*—2004.—**16**, N 3.—P. 375–386.
9. *Ling J., Roy H., Ibba M.* Mechanism of tRNA-dependent editing in translational quality control // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*—2007.—**104**, N 1.—P. 72–77.
10. *Hopfield J. J.* Kinetic proofreading: a new mechanism for reducing errors in biosynthetic processes requiring high specificity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*—1974.—**71**, N 10.—P. 4135–4139.
11. *Ninio J.* Kinetic amplification of enzyme discrimination // *Biochimie.*—1975.—**57**, N 5.—P. 587–595.
12. *Beuning P., Musier-Forsyth K.* Hydrolytic editing by a class II aminoacyl-tRNA synthetase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*—2000.—**97**, N 16.—P. 8916–8920.
13. *Stathopoulos C., Li T., Longman R., Vothknecht U. C., Becker H. D., Ibba M., Soll D.* One polypeptide with two aminoacyl-tRNA synthetase activities // *Science.*—2000.—**287**, N 5452.—P. 479–482.
14. *Ahel I., Stathopoulos C., Ambrogelly A., Sauerwald A., Toogood H., Hartsch T., Soll D.* Cysteine activation is an inherent *in vitro* property of prolyl-tRNA synthetases // *J. Biol. Chem.*—2002.—**277**, N 38.—P. 34743–34738.
15. *Hati S., Ziervogel B., Sternjohn J., Wong F. C., Nagan M. C., Rosen A. E., Siliciano P. G., Chihade J. W., Musier-Forsyth K.* Pre-transfer editing by class II prolyl-tRNA synthetase: role of aminoacylation active site in «selective release» of noncognate amino acids // *J. Biol. Chem.*—2006.—**281**, N 38.—P. 27862–27872.
16. *Splan K. E., Ignatov M. E., Musier-Forsyth K.* Transfer RNA modulates the editing mechanism used by class II prolyl-tRNA synthetase // *J. Biol. Chem.*—2008.—**283**, N 11.—P. 7128–7134.
17. *Boyarshin K. S., Krikliyvi I. A., Rayevskiy A. V., Himin A. A., Yaremchuk A. D., Tukalo M. A.* Study on the putative active site of *Enterococcus faecalis* prolyl-tRNA synthetase editing domain by methods of site-directed mutagenesis // *Biopolym. Cell.*—2009.—**25**, N 1.—P. 39–42.
18. *Boiarshin K. S., Krikliyvi I. A., Tukalo M. A.* tRNA-dependent editing of errors by prolyl-tRNA synthetase from bacteria *Enterococcus faecalis* // *Ukr. Biokhim. Zh.*—2008.—**80**, N 6.—P. 52–59.
19. *Boyarshin K. S., Krikliyvi I. A., Yaremchuk A. D., Tukalo M. A.* Cloning, expression and purification of tRNA^{Pro} from bacteria *Enterococcus faecalis* // *Biopolym. Cell.*—2009.—**25**, N 6.—P. 445–450.
20. *Splan K. E., Musier-Forsyth K., Boniecki M. T., Martinis S. A.* *In vitro* assays for the determination of aminoacyl-tRNA synthetase editing activity // *Methods.*—2008.—**44**, N 2.—P. 119–128.
21. *Easterbrook-Smith S. B., Wallace J. C., Keech D. B.* Pyruvate carboxylase: affinity labelling of the magnesium adenosine triphosphate binding site // *Eur. J. Biochem.*—1976.—**62**, N 1.—P. 125–130.

Received 15.04.13