



# Структура и функция биополимеров

УДК 577.217.3

Н. И. Шульга

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ $Mg^{2+}$ И тРНК НА НЕОДНОЗНАЧНОСТЬ ТРАНСЛЯЦИИ СИНТЕТИЧЕСКИХ МАТРИЦ В БЕСКЛЕТОЧНЫХ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩИХ СИСТЕМАХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Получены и охарактеризованы бесклеточные белоксинтезирующие системы (S-30) из штаммов *S. cerevisiae*, исходных (12В-П4280 и 125А-П2156) и супрессорных (3-12В-П4280 и 4-125А-П2156), несущих мутации в гене *sup-1* (*sup-45*) и характеризующихся более низкой точностью трансляции *in vivo* по сравнению с исходными штаммами. Исследование ошибочного включения лейцина в продукт трансляции поли(U) показало, что, вопреки ожиданиям, S-30 системы из исходных штаммов обладали меньшей точностью по сравнению с S-30 системами из супрессорных штаммов. Анализ причин этих отличий показал, что в их основе лежит разный уровень образования фенилаланил- и лейцил-тРНК и соответственно изменение соотношения этих аминоксил-тРНК в системах различного происхождения. Этот фактор может быть нивелирован добавлением в системы избытка суммарной тРНК дрожжей. В условиях дефицита тРНК в системах обнаружена индукция ионами  $Mg^{2+}$  трансляции поли(dT), которая заметно снижалась при насыщении системы тРНК. В связи с этим предполагается, что не только повышенные концентрации  $Mg^{2+}$ , но и недостаток тРНК в пробах способствуют возрастанию неоднозначности трансляции поли(U).

**Введение.** Использование бесклеточных белоксинтезирующих систем для изучения параметров трансляции широко распространено в современной молекулярной биологии. С их помощью удалось определить и описать многие стадии белкового синтеза и детали взаимодействия компонентов, участвующих в этих процессах.

Методические подходы для изучения регуляции трансляции у эукариотических организмов значительно обогатились благодаря привлечению в качестве объектов исследования представителей низших эукариот, таких как *S. cerevisiae*, *Neurospora crassa*, *Podospora anserina*. Наибольший интерес здесь представляют дрожжи, поскольку к ним может быть применен весь арсенал приемов современной генной инженерии. Комбинация генетических и биохимических методов анализа обещает дать много полезной информации. На сегодняшний день в нескольких лабораториях получены коллекции мутантных штаммов дрожжей, обладающих свойствами информационных супрессоров, исправляющих ошибки кодирования на уровне трансляции. Наиболее изучен класс доминантных супрессоров. Гены-супрессоры в этом случае, как правило, кодируют структуру тРНК [1]. Рecessивные супрессорные мутации у дрожжей *S. cerevisiae* были впервые описаны Инге-Вечтомовым [2, 3]. В настоящее время они интенсивно изучаются. Доказано, что мутации этого типа возникают только в двух генах — *sup-1* и *sup-2*. Предполагается, что эти гены кодируют некие белки, участвующие в процессе трансляции. Поскольку функции этих белков пока не известны, представляется перспективным использование бесклеточных белок-

© Н. И. ШУЛЬГА, 1992

синтезирующих систем из таких мутантов для сравнительного биохимического тестирования *in vitro* их аппаратов трансляции с целью идентификации и изучения свойств компонентов, участвующих в регуляции точности трансляции.

Однако работа с бесклеточными белоксинтезирующими системами требует тщательной подготовки и определенной осторожности в интерпретации полученных данных. Несмотря на кажущуюся простоту, модельная система, основанная на изучении ошибочного включения лейцина при поли(U)-зависимом синтезе полифенилаланина, нуждается в подробной характеристике всякий раз, когда необходимо проводить сравнительные исследования параметров эффективности и точности трансляции. Особенно это важно при исследовании белоксинтезирующих аппаратов, полученных из различных штаммов, имеющих генетические отличия. В данной работе дана характеристика бесклеточных белоксинтезирующих систем из нескольких исходных и супрессорных штаммов, подробно описанных ранее [4, 5], представлены результаты по влиянию ионов магния и тРНК на абсолютные и относительные значения показателя точности Лей/Фен при трансляции поли(U), описан феномен индукции трансляции поли(dT).

**Материалы и методы.** Штаммы. Использовали штаммы из Петергофской коллекции дрожжей. Исходные 12В-П4280 с генотипом *adel-4 his7-1 thr4-B15 leu2-1 can1-88* и 125А-П2156 с генотипом *adel-14 his7-1 lys2-A12 thr4-B15 leu2-2*, а также соответствующие им супрессорные штаммы 3-12В-П4280 и 4-125А-П2156, несущие мутации в гене *sup-1*.

Получение бесклеточной белоксинтезирующей системы (S-30 фракции). Биомассу выращивали при 20 °С. Разрушение клеток при помощи стеклянных бус, получение постмитохондриального супернатанта проводили, как описано ранее [6]. Буфер для разрушения клеток содержал 20 мМ трис-Ас, рН 7,5, 100 мМ ацетат калия, 2 мМ ацетат магния, 2 мМ дитиотреитол, 0,5 мМ фенилметилсульфонилфлюорид. Гомогенат центрифугировали 15 мин при 30 000 g, а затем пипеткой Пастера отбирали 2/3 надосадочной жидкости и наносили на колонку с сефадексом G-25, уравновешенным тем же буфером с добавлением 20 % глицерина. Фракции, имеющие максимальное поглощение при 260 нм, смешивали, фасовали в пластиковые наконечники для самплеров, замораживали и хранили в жидком азоте. Такие препараты бесклеточной белоксинтезирующей системы (в дальнейшем S-30 системы или фракции) в течение 6 месяцев не теряли активности.

Суммарный препарат тРНК получали из пекарских дрожжей по методу [7].

Изучение аминоацилирования и трансляции в бесклеточной белоксинтезирующей системе. Инкубационная смесь для создания бесклеточной белоксинтезирующей системы содержала 0,5 о.е. A<sub>260</sub> S-30 фракция, 30 мМ НЕРЕС-КОН, рН 7,5, 150 мМ ацетат калия, 4—30 мМ ацетат магния, 1 мМ АТФ, 40 мкМ ГТФ, 10 мМ креатинфосфат, 40 мкг/мл креатинфосфокиназы из мышц кролика, 2 мМ дитиотреитол, 40 мкМ спермин, 20 мкМ [<sup>14</sup>С]фенилаланин с активностью 13 320 МБк/ммоль и 20 мкМ [<sup>12</sup>С]лейцин либо 20 мкМ [<sup>14</sup>С]лейцин с активностью 8800 МБк/ммоль и 20 мкМ [<sup>12</sup>С]фенилаланин. Все реагенты производства «Calbiochem» (США), изотопы — UVVR (ЧСФР). Инкубация при 20 °С. В пробы вносили 25 мкг поли(U) («Sigma», США), а при сравнительных исследованиях двух матриц — 5 мкг поли(U) или 5 мкг поли(dT) (НИКТИ БАВ, Новосибирск). При изучении аминоацилирования пробы объемом 50 мкл, содержащие вышеуказанную смесь, через 20 мин инкубации обрабатывали охлажденным 10 %-ным раствором ТХУ и быстро собирали на фильтры Whatman GF/C, промывая осадок 5 %-ной ТХУ. При изучении полипептидного синтеза пробы объемом 50 мкл инкубировали в течение 40 мин, затем обрабатывали щелочью при 40 °С в течение 20 мин для

разрушения аминоктил-тРНК, далее добавляли 10 %-ную ТХУ. Осадок собирали на фильтры GF/C и промывали 5 %-ной ТХУ. Радиоактивность осадка на высушенных фильтрах подсчитывали в сцинтилляторе ЖС-1 на счетчике SL-40 («Intertechnique», Франция). Данные, представленные на рисунках, получены при сравнительных исследованиях S-30 систем из исходного 125А-П2156 и супрессорного 4-125А-П2156 штаммов. Аналогичные эксперименты проводили с S-30 из исходного 12В-П4280 и супрессорного 3-12В-П4280 штаммов. Полученные результаты не

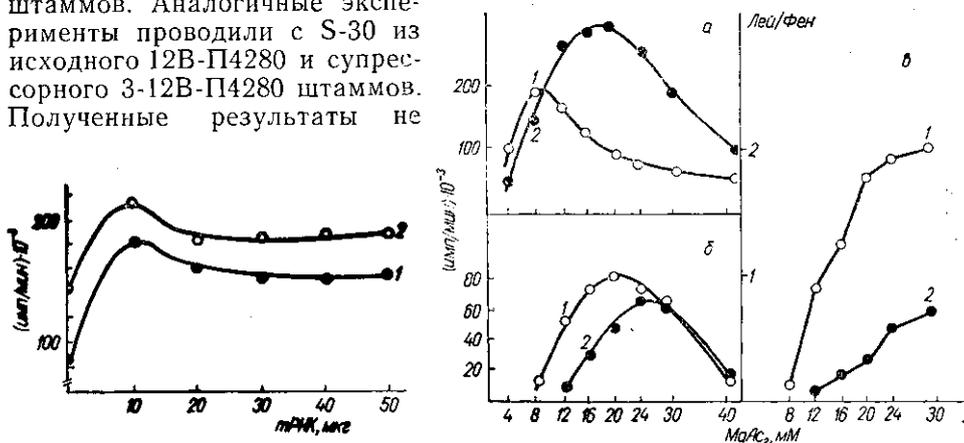


Рис. 1. Влияние экзогенной тРНК дрожжей на эффективность включения  $[^{14}\text{C}]$ фенилаланина в продукт трансляции поли(U) в бесклеточных белоксинтезирующих системах из различных штаммов *S. cerevisiae*: 1 — исходный штамм; 2 — супрессорный штамм

Рис. 2. Влияние ионов магния на эффективность включения  $[^{14}\text{C}]$ фенилаланина (а) и  $[^{14}\text{C}]$ лейцина (б) в продукт трансляции поли(U) и показатель точности Лей/Фен (в) в бесклеточных белоксинтезирующих системах из различных штаммов *S. cerevisiae*: 1 — исходный штамм; 2 — супрессорный штамм

отличались от таковых для вышеуказанной пары штаммов.

**Результаты и обсуждение.** Включение меченых фенилаланина и лейцина в продукт трансляции изучали в S-30 фракциях, содержащих все необходимые компоненты для успешной трансляции поли(U). Оптимальные условия трансляции, а также концентрации компонентов смеси определяли экспериментально (численные значения приведены в «Материалах и методах»). Они оказались сходными для всех полученных препаратов S-30 и хорошо согласовывались с ранее описанными [6, 8]. Единственным отличием препаратов бесклеточной системы из исходных штаммов была их более выраженная чувствительность к добавлению экзогенной суммарной тРНК дрожжей по сравнению с S-30 системами из супрессорных штаммов.

Характер типичной зависимости включения  $[^{14}\text{C}]$ фенилаланина в продукт трансляции поли(U) от концентрации экзогенной тРНК представлен на рис. 1. Уровень включения  $[^{14}\text{C}]$ фенилаланина и  $[^{14}\text{C}]$ лейцина в продукт трансляции поли(U), а также изменение показателя точности Лей/Фен, изученные в широком интервале концентраций ионов магния (рис. 2), свидетельствуют о том, что в данных условиях постановки опытов система трансляции из супрессорного штамма обладает большей точностью, чем соответствующая ей система из исходного штамма. Используя S-30 системы, полученные независимо образом из различных штаммов, мы следили за тем, чтобы все условия проведения экспериментов и концентрации компонентов инкубационной смеси были одинаковыми. Поэтому найденные различия в значениях показателя точности Лей/Фен можно объяснить лишь какими-то отличиями в компонентах самих S-30 фракций.

В следующей серии опытов мы вносили в пробы 10 мкг суммарной тРНК из дрожжей, что соответствует максимальному включению фенилаланина в продукт трансляции поли(U) (см. рис. 1). Сравнение данных рис. 2 и 3 позволяет сделать вывод о том, что показатель точ-

ности Лей/Фен существенным образом зависит от количества тРНК в пробах. При избытке тРНК показатели точности Лей/Фен при трансляции поли(U) в S-30 системах из исходных и супрессорных штаммов не имеют достоверных отличий. Таким образом, показатель точности Лей/Фен характеризуется высокой степенью вариабельности в зависимости от содержания ионов магния и тРНК в системе. При изменении

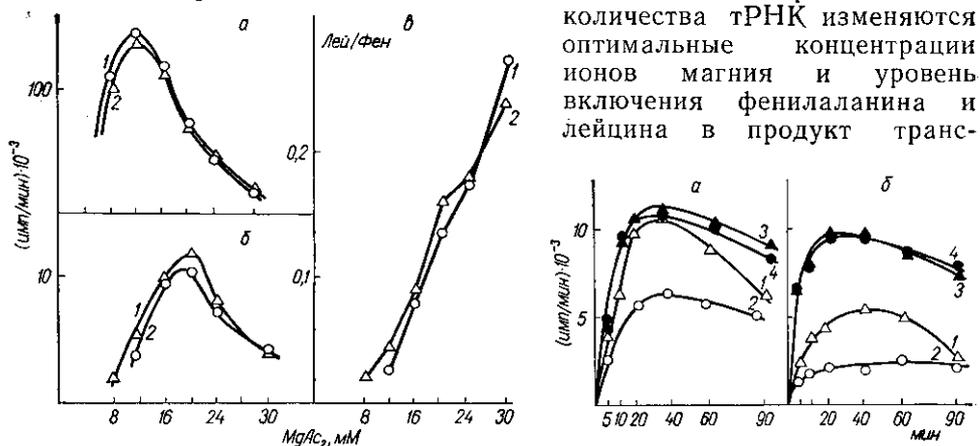


Рис. 3. Влияние ионов магния на эффективность включения  $[^{14}\text{C}]$ фенилаланина (а) и  $[^{14}\text{C}]$ лейцина (б) в продукт трансляции поли(U) и показатель точности Лей/Фен (в) при добавлении 10 мкг на пробу тРНК дрожжей в бесклеточных белоксинтезирующих системах из различных штаммов *S. cerevisiae*: 1 — исходный штамм; 2 — супрессорный штамм (в пробы вносили 0,3 о.е.  $A_{260}$  S-30)

Рис. 4. Кинетика накопления лейцил-тРНК (а) и фенилаланил-тРНК (б) в бесклеточной белоксинтезирующей системе из исходного штамма дрожжей: 1—8 мМ  $\text{MgAc}_2$ ; 2—20 мМ  $\text{MgAc}_2$ ; 3—8 мМ  $\text{MgAc}_2$  и 10 мкг на пробу тРНК дрожжей; 4—20 мМ  $\text{MgAc}_2$  и 10 мкг на пробу тРНК дрожжей

ляции поли(U) и, следовательно, показатель точности Лей/Фен. Так как в пробы добавляли только две аминокислоты, показатель точности должен был отражать конкуренцию фенилаланил-тРНК и лейцил-тРНК на рибосомах. Образование аминоксил-тРНК происходит при инкубации S-30 фракции параллельно с собственно полипептидным синтезом. Поскольку количество и соотношение аминоксил-тРНК может существенно влиять на точность трансляции *in vitro* [9—11], мы изучили процесс аминокислирования по фенилаланину и лейцину в условиях работы системы биосинтеза белка, но в отсутствие поли(U). Кинетика накопления аминоксил-тРНК в S-30 системе из исходного штамма без добавления и при добавлении 20 мкг экзогенной тРНК дрожжей представлена на рис. 4. На рис. 5 отражено влияние ионов магния и тРНК на уровень образования аминоксил-тРНК в S-30 системе из исходного штамма. Оказалось, что при дефиците тРНК в пробах аминокислирование существенно зависит от концентрации ионов магния. При этом количество синтезированных фенилаланил-тРНК в среднем в 3,5 раза меньше, чем количество синтезированных лейцил-тРНК. При концентрациях  $\text{Mg}^{2+}$  выше 20 мМ в отсутствие трансляции происходит ингибирование синтеза фенилаланил-тРНК. При добавлении в пробы экзогенной тРНК дрожжей ингибирующее влияние повышенной концентрации магния становится не столь существенным. При этом заметно возрастает образование только фенилаланил-тРНК, в связи с чем изменяется соотношение Лей-тРНК/Фен-тРНК от 1,4 при 8 мМ  $\text{Mg}^{2+}$  до 1,1 при 30 мМ  $\text{Mg}^{2+}$ . Кинетика образования аминоксил-тРНК при избытке тРНК не имеет выраженных отличий от таковой в условиях ее дефицита. В то же время аминокислирование в пробах, содержащих S-30 фракции из супрессорных штаммов, как при добавлении тРНК, так и без нее практически не отличается от аминокислирования в S-30 системах из исходных штаммов при добавлении экзогенной тРНК.

Совокупность этих данных позволяет сделать предположение о том, что столь существенная разница в точности трансляции поли(U) бесклеточными системами из исходных и супрессорных штаммов в наших экспериментах вызвана, по-видимому, не различными свойствами рибосом, а различным содержанием тРНК в клетках этих штаммов. Соответствующие различия в содержании тРНК в S-30 системах приводят к иному соотношению лейцил-тРНК/фенилаланил-тРНК при трансляции поли(U) в условиях индукции высокими

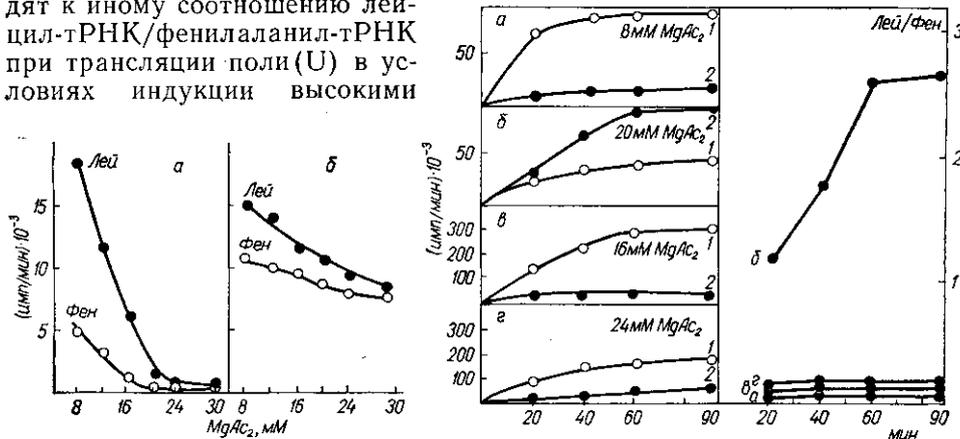


Рис. 5. Влияние ионов магния на эффективность образования аминоксил-тРНК в отсутствие (а) и в присутствии (б) экзогенной тРНК в бесклеточной белоксинтезирующей системе из исходного штамма *S. cerevisiae*

Рис. 6. Кинетика включения  $[^{14}\text{C}]$ фенилаланина (1) и  $[^{14}\text{C}]$ лейцина (2) в продукт трансляции поли(U) и изменение показателя точности Лей/Фен при оптимальных для включения фенилаланина (а, в) и лейцина (б, г) концентрациях ионов магния в отсутствие (а, б) и в присутствии (в, г) экзогенной тРНК дрожжей в бесклеточной белоксинтезирующей системе из исходного штамма *S. cerevisiae*

концентрациями ионов магния ошибочного включения лейцина в продукт трансляции. Это предположение согласуется с данными по изучению кинетики включения  $[^{14}\text{C}]$ Фен и  $[^{14}\text{C}]$ Лей в продукт трансляции поли(U) при оптимальных концентрациях ионов магния в отсутствие и присутствии экзогенной тРНК. На рис. 6 видно, что в условиях недостатка тРНК и при оптимальной для включения лейцина концентрации ионов магния (рис. 6, б) наблюдается резкое снижение точности трансляции поли(U) во времени и возрастание соотношения Лей/Фен, что хорошо согласуется с данными по аминокислотированию в этих условиях и объясняется истощением пула эндогенных фенилаланил-тРНК при избытке лейцил-тРНК. Во всех других случаях показатель точности является постоянным во времени, а отличается по абсолютным значениям в зависимости от концентраций  $\text{Mg}^{2+}$  и тРНК.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что *in vitro* в системе трансляции, содержащей эндогенные тРНК и аминокислот-тРНК синтетазы, может устанавливаться определенный уровень аминокислот-тРНК, может изменяться соотношение индивидуальных аминокислот-тРНК в зависимости от условий проведения экспериментов. Это обстоятельство необходимо учитывать при сравнительных исследованиях ошибочной работы декодирующего центра рибосом, так как оно существенно влияет на значения показателя точности Лей/Фен и требует осторожного подхода к интерпретации полученных данных. Другим видом ошибочной работы декодирующего центра рибосом является считывание необычных матриц.

Используя в качестве матрицы полидезоксирибонуклеиновую кислоту поли(dT), мы обнаружили включение  $[^{14}\text{C}]$ фенилаланина в ТХУ-нерастворимый продукт трансляции, уровень которого зависел от концентрации ионов магния и тРНК (рис. 7). При этом не было обнаружено включения  $[^{14}\text{C}]$ лейцина и других аминокислот в продукт трансляции поли(dT).

На рис. 8 представлены данные о влиянии ионов магния, а также недостатка или избытка тРНК в системе на эффективность включения лейцина и фенилаланина в продукт трансляции поли(U). Из анализа результатов, представленных на рис. 7 и 8, следует, что от количества тРНК в системе зависит как точность процесса декодирования поли(U), так и эффективность считывания поли(dT). Однако, если при трансляции поли(U) в условиях дефицита тРНК возрастание ошибочного включения лейцина в продукт трансляции можно объяснить су-

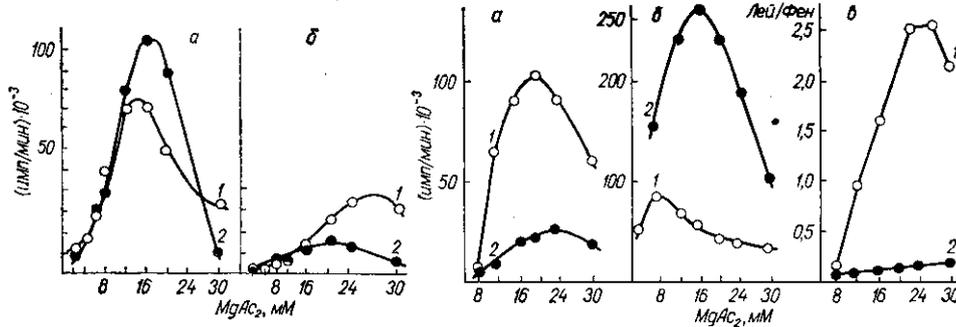


Рис. 7. Влияние ионов магния на эффективность включения [<sup>14</sup>C]фенилаланина в продукт трансляции поли(U) (а) и поли(dT) (б) в бесклеточной белоксинтезирующей системе из исходного штамма: 1 — в отсутствие и 2 — в присутствии экзогенной тРНК дрожжей

Рис. 8. Влияние ионов магния на включение [<sup>14</sup>C]лейцина (а) и [<sup>14</sup>C]фенилаланина (б) в продукт трансляции поли(U) показатель точности Лей/Фен (в) в бесклеточной белоксинтезирующей системе из исходного штамма дрожжей: 1 — в отсутствие и 2 — в присутствии экзогенной тРНК дрожжей

ществованием в системе избытка лейцил-тРНК по сравнению с фенилаланил-тРНК, то причины, по которым при недостатке тРНК наблюдается более эффективная трансляция «неправильной» матрицы поли(dT), остаются пока неизвестными.

Суммируя вышеизложенное, необходимо подчеркнуть, что эти данные получены с использованием «грубых» бесклеточных белоксинтезирующих систем из штаммов, несущих генетические повреждения, в том числе и в гене *sup-1*. В ряде публикаций отстаивается версия о том, что гены *sup-1* и *sup-2* кодируют некие белковые компоненты рибосом или ферменты, модифицирующие белки рибосом [12—15]. В качестве одного из доказательств такого предположения авторы приводят данные о более высокой «ошибаемости» *in vitro* рибосом из супрессорных штаммов по сравнению с рибосомами исходных штаммов. Эти результаты получены с использованием частично реконструированных систем трансляции. Хотелось бы обратить внимание исследователей на тот факт, что каждая система трансляции нуждается в подробной характеристике в отношении оптимальных концентраций всех компонентов, а также их соотношения. Используя бесклеточные системы трансляции из исходных и супрессорных штаммов для сравнительных исследований точности трансляции поли(U), мы столкнулись с необходимостью стандартизировать условия проведения экспериментов и оптимизировать концентрации компонентов. Вместе с тем в наших руках оказалась система для моделирования уровня неоднозначности трансляции *in vitro*. Сравнительное изучение точности трансляции с использованием бесклеточных систем, полученных из различных источников, характеризуется высокой вариабельностью показателей точности от опыта к опыту, от выделения к выделению и требует строгой стандартизации условий проведения экспериментов.

Для доказательства того, что причины различий в значениях показателей точности связаны именно с рибосомами (или каким-то другим определенным компонентом аппарата трансляции), необходимо использовать полностью реконструированную систему и вносить строго фик-

сированные количества всех компонентов таким образом, чтобы при сравнительных экспериментах системы отличались только по одному параметру — например, по источнику получения рибосом.

Игнорирование этого требования может приводить к неправильной трактовке полученных результатов. С другой стороны, сравнительное исследование бесклеточных систем различной степени очистки открывает возможность определить факторы, которые имеют отношение к регуляции точности трансляции. Фракции S-30 содержат компоненты цитоплазмы в количествах и соотношениях, наиболее приближенных к таковым *in vivo*, и могут включать элементы, отсутствующие или содержащиеся в недостаточном количестве в частично или полностью реконструированных системах.

Автор выражает благодарность С. Г. Инге-Вечтомову за предоставление штаммов 125А-П2156 и 4-125А-П2156 и М. Д. Тер-Аванесяну — за штаммы 12В-П4280 и 3-12В-П4280.

Summary. Cell-free systems (S-30) have been obtained and characterized from yeast strains differing in translation accuracy *in vivo*. Investigation of leucine misincorporation into poly(U) translation product has shown that S-30 systems from parent strains (12V-P4280 and 125A-P2156) have higher accuracy index Leu/Phe in comparison with S-30 systems from suppressor strains (3-12V-P4280 and 4-125A-P2156) carrying mutation in *sup-1* (*sup-45*) gene. Analysis of the basis of these differences has demonstrated that they can be caused by tRNAs aminoacylation level and accordingly by alteration of individual aminoacyl-tRNAs ratio in systems from different origins. This factor can be overcome by exogenous yeast tRNA addition. High  $Mg^{2+}$  ions concentration as well as tRNA deficit in the samples have been assumed to cause poly(U) translation ambiguity increase.  $Mg^{2+}$  stimulation of poly(dT) translation has been revealed under tRNA deficit. Saturating of the system with tRNA leads to the marked decrease of this translation.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Transfer RNA: Biological aspects*/Eds D. Söll, J. N. Abelson, P. R. Schimmel.— New York: Cold Spring Harbor Lab., 1980.— P. 379—449.
2. Инге-Вечтомов С. Г. Реверсия к прототрофности у дрожжей, нуждающихся в адеинине // Вестник ЛГУ.— 1961.— № 2.— С. 112.
3. Инге-Вечтомов С. Г., Андриянова В. М. Рecessивные суперсупрессоры у дрожжей // Генетика.— 1970.— 6, № 11.— С. 103.
4. Генетический контроль неоднозначности трансляции у эукариотов / М. Д. Тер-Аванесян, С. Г. Инге-Вечтомов, А. П. Сургучев, В. Н. Смирнов // Успехи соврем. биологии.— 1984.— 97, № 3.— С. 341—353.
5. Ribosomal suppression in eukaryotes / A. P. Surguchov, V. N. Smirnov, M. D. Ter-Avanesyan, S. G. Inge-Vechtomo // Physicochem. Biol. Rev.— 1984.— 4.— P. 147.
6. Tuite M. F., Plesset J. mRNA-dependent yeast cell-free translation systems: theory and practice // Yeast.— 1986.— 2.— P. 35—52.
7. Zubay C. The isolation of soluble ribonucleic acid // J. Mol. Biol.— 1962.— 4, N 3.
8. Chanda P. K., Kung H.-F. In vitro synthesis of biologically active human leucocyte interferon in a RNA-dependent system from *Saccharomyces cerevisiae* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1983.— 80.— P. 2569—2573.
9. Grunberg-Manago M., Dondon J. Influence of pH and s-RNA concentration on coding ambiguities // Biochem. and Biophys. Res. Commun.— 1965.— 18, N 4.— P. 517.
10. Etskaya A. V., Soldatkin A. P. The accuracy of poly(U) translation by different eukaryotic tRNAs // FEBS Lett.— 1983.— 164, N 1.— P. 93—96.
11. Pingoud A., Gast F.-U., Peters F. The influence of the concentration of elongation factors and tRNA on the dynamics and accuracy of protein biosynthesis // Biochim. et biophys. acta.— 1990.— 1050.— P. 252—258.
12. Берестецкая Ю. В., Сургучев А. П. Повышенный уровень ошибок функционирования рибосом из штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, несущих recessивные супрессорные мутации // Биол. науки.— 1983.— № 2.— С. 18—21.
13. Altered 40S ribosomal subunits in omnipotent suppressors of yeast / D. C. Eustice, L. P. Waker, J. M. Wilhelm, F. Sherman // J. Mol. Biol.— 1986.— 188.— P. 207.
14. Берестецкая Ю. В., Смирнов В. Н., Сургучев А. П. Двумерный гель-электрофорез рибосомных белков из штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, несущих recessивную супрессорную мутацию // Биол. науки.— 1981.— № 3.— С. 20—24.
15. Фоминых Е. С., Сургучев А. П. Повышенное количество рибосомных субчастиц в штаммах дрожжей, несущих nonсенс-супрессорные мутации // Там же.— 1982.— № 3.— С. 13—16.