

УДК 577.152.4

Каталитический механизм воздействия триптофан-индол-лиазы на нестандартные субстраты. Роль ионного состояния каталитической группы, акцептирующей C_{α} -протон субстрата

Н. Г. Фалеев^{1*}, М. А. Цветикова¹, О. И. Гоголева¹, С. В. Ревтович², В. В. Куликова²,
К. А. Кочетков^{1,3}

¹Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 119991, Москва,
ул. Вавилова, 28

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва,
ул. Вавилова, 32

³Химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва, Миусская пл., 9

*E-mail: ngfal@ineos.ac.ru

Поступила в редакцию 23.04.2019

Принята к печати 23.07.2019

DOI: 10.32607/20758251-2019-11-3-82-88

РЕФЕРАТ В реакции триптофан-индол-лиазы (ТИЛ) с субстратом, содержащим плохую уходящую группу (*L*-серин), необходим общекислотный катализ на стадии ее отщепления. В ходе этой стадии происходит формальный перенос протона из α -положения субстрата к уходящей группе, при этом отщепляется вода. В результате группа, первоначально акцептировавшая C_{α} -протон, в последующей каталитической стадии должна выступать в виде соответствующего сопряженного основания. Когда субстрат содержит хорошую уходящую группу (β -хлор-*L*-аланин), общекислотный катализ на стадии элиминирования не является необходимым и не может быть реализован, поскольку в ферментах отсутствуют сильные кислотные группы, которые могли бы отдать свой протон столь слабому основанию, как отщепляющийся анион хлора. Таким образом каталитическая группа, первоначально принявшая C_{α} -протон от субстрата, должна вступить в последующую стадию в кислотной, а не основной форме. Для выяснения механизмических последствий изменений ионного состояния этой группы для реакций ТИЛ с нестандартными субстратами – *L*-серином и β -хлор-*L*-аланином, рассмотрены рН-зависимости основных кинетических параметров процесса и кинетические изотопные эффекты, обусловленные заменой обычной воды в качестве растворителя на 2H_2O . Установлено, что в реакции ТИЛ с β -хлор-*L*-аланином стадия гидролиза аминокрилатного интермедиа чувствительна к изотопному эффекту растворителя, а в случае реакции с *L*-серином – нет. Показано, что в ходе первой реакции функциональная группа, содержащая «дополнительный» протон, выполняет конкретную каталитическую функцию, тогда как в реакции с *L*-серином, когда отсутствует этот протон, механизм гидролиза аминокрилата должен быть принципиально иным. На основании полученных результатов предложены возможные механизмы гидролиза аминокрилата в реакциях ТИЛ с *L*-серином и β -хлор-*L*-аланином.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА кинетика, триптофан-индол-лиаза, *L*-серин, β -хлор-*L*-аланин.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ИЭР – изотопный эффект растворителя; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; ПДФ – пиридоксаль-5'-фосфат; ТИЛ – триптофан-индол-лиаза; SOPC – S-(*o*-нитрофенил)-*L*-цистеин.

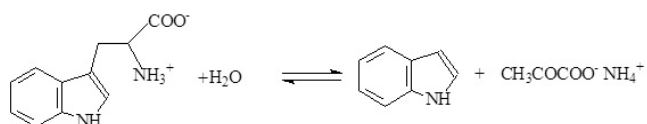
ВВЕДЕНИЕ

При установлении каталитических механизмов ферментативных реакций основополагающей концепцией является представление о том, что при за-

вершении каждой из стадий процесса создаются максимально благоприятные химические и конформационные предпосылки для последующих стадий [1]. В этой связи значительный интерес вызывает из-

учение механизмов ферментов, характеризующихся широкой субстратной специфичностью, поскольку в зависимости от химической природы субстрата в активном центре могут возникать ситуации, приводящие к нарушению указанного выше принципа.

Триптофан-индол-лиаза (ТИЛ), широко известная как триптофаназа [КФ 4.1.99.1] – пиридоксаль-5'-фосфат (ПЛФ)-зависимый фермент, который катализирует обратимое α,β -элиминирование *L*-триптофана с образованием индола и пирувата аммония:



Субстратами ТИЛ являются также остатки триптофана, замещенные по различным положениям индольного кольца [2, 3], бензимидазольные аналоги триптофана [4], а также аминокислоты, содержащие подходящие уходящие группы у β -углеродного атома, включая *S*-(*o*-нитрофенил)-*L*-цистеин (SOPC) [5], *S*-алкил-*L*-цистеины [6], β -хлор-*L*-аланин [5], *L*-серин [6] и *O*-ацил-*L*-серины [7].

Методом рентгеноструктурного анализа установлена трехмерная структура ТИЛ из *Escherichia coli* [8–10] и фермента из клеток *Proteus vulgaris* [11].

Каталитический механизм детально исследован в работах [12–16], а роль конкретных остатков в механизме ТИЛ подробно освещена в обзоре [17] и в работах [18–20].

На *схеме* представлен каталитический механизм реакции ТИЛ с природным субстратом *L*-триптофаном, который согласуется с имеющимися на текущий момент рентгеноструктурными и кинетическими данными. Ключевые стадии этого механизма – отрыв α -протона внешнего альдимины под действием боковой аминогруппы Lys270 и последующее элиминирование боковой группы, предполагающее перенос протона от фенольного гидроксила Tyr74 в третье положение уходящей индольной группы. При этом перенос протона и расщепление углерод-углеродной связи происходят почти одновременно [16]. Установлено [21], что при ферментативном разложении *L*-триптофана происходит значительный внутримолекулярный перенос S_{α} -протона субстрата в третье положение образующегося индола. Поскольку остатки Lys270 и Tyr74 находятся достаточно далеко друг от друга и расположены по разные стороны плоскости кофактора, прямая передача протона от одного остатка к другому представляется маловероятной. Поэтому наблюдаемый внутримолекулярный перенос может быть следствием

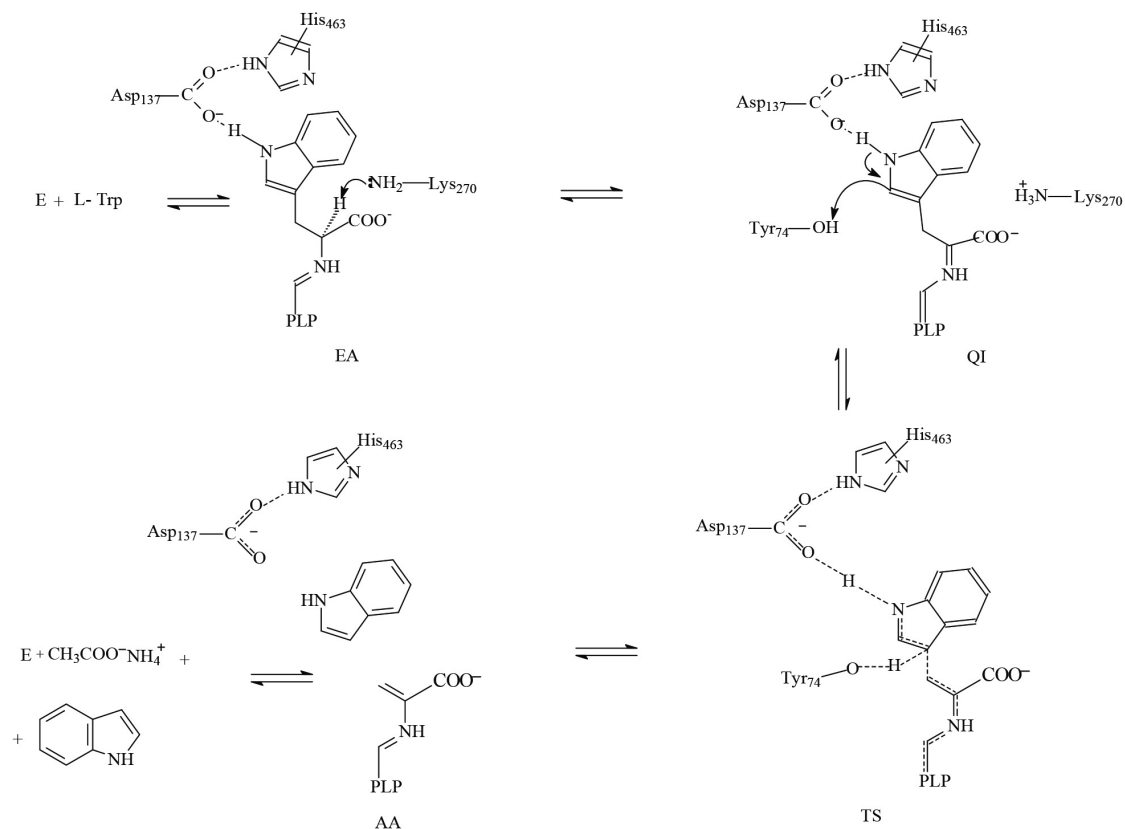


Схема. Принципиальный механизм реакции ТИЛ с *L*-триптофаном, согласующийся с [12–18]. Е – внутренний альдимин; ЕА – внешний альдимин; QI – хиноидный интермедиат; TS – переходное состояние; АА – аминокрилат

существования цепочки водородных связей между несколькими остатками, делающей возможным наблюдаемый перенос. Получено убедительное рентгеноструктурное свидетельство существования такой цепочки [20]. В реакциях α,β -элиминирования с субстратами, содержащими плохую уходящую группу, например, *L*-серин, необходим общекилотный катализ на стадии отщепления уходящей группы. В ходе этой стадии происходит формальный перенос протона (напрямую или по цепочке водородных связей) из α -положения субстрата к уходящей группе субстрата, которая при этом подвергается отщеплению в виде соответствующей сопряженной кислоты. В результате группа, первоначально акцептировавшая C_{α} -протон, после элиминирования уходящей группы должна выступать в виде соответствующего сопряженного основания. Известно, что хорошим субстратом α,β - и α,γ -элиминирующих лиаз служит β -хлор-*L*-аланин. В реакциях с этим субстратом уходящей группой является анион хлора. При этом общекилотный катализ на стадии элиминирования не требуется и не может быть в данном случае реализован, поскольку в ферментах отсутствуют сильные кислотные группы, способные отдать свой протон столь слабому основанию, как анион хлора. Таким образом, каталитическая группа, первоначально принявшая α -протон от субстрата, должна вступить в последующую стадию в кислотной, а не в основной форме. Вопрос о том, какие механистические последствия должно иметь изменение ионного состояния этой группы, представляет, на наш взгляд, принципиальный интерес. Реальными представляются следующие две возможности. 1). Появление в рН-профиле кинетических параметров новой кислотной группы, связанное с необходимостью перехода группы, акцептировавшей α -протон, в основное состояние. 2). Изменение механизма последующих стадий, обусловленное изменением ионного состояния указанной каталитической группы. В настоящей работе мы предприняли попытку прояснить данный вопрос, изучив рН-зависимости параметров стационарной кинетики реакций ТИЛ *E. coli* с *L*-серином и β -хлор-*L*-аланином и рассмотрев кинетические изотопные эффекты, обусловленные заменой обычной воды в качестве растворителя на 2H_2O .

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали реагенты фирмы Sigma-Aldrich. Использована 2H_2O с изотопной чистотой 96%.

Фермент

ТИЛ была выделена из клеток *E. coli* JM101, содержащих плазмиду рMD6 с геном *tnaA E. coli*, как опи-

сано в работе [22]. Концентрацию фермента определяли по поглощению ПЛФ холофермента при 278 нм ($A_{1\%} = 9.19$) [23], используя значение молярной массы субъединицы 52 кДа [24].

Определение активности ТИЛ

В качестве субстрата использовали *S*-о-нитрофенил-*L*-цистеин (SOPC). Реакционная смесь для измерения активности содержала 0.6 ммоль SOPC, фермент, 0.12 М калий-фосфатный буфер, рН 7.8, 3 мМ дитиотреитол, 0.06 мМ ПЛФ и 10% глицерин. Активность измеряли при 30°C по снижению поглощения SOPC при 370 нм ($\epsilon = -1860 M^{-1} \text{ мин}^{-1}$). За единицу активности принимали количество фермента, катализирующего разложение 1 мкмоль SOPC в минуту в стандартных условиях. SOPC синтезировали согласно [25].

Кинетические измерения

При исследовании кинетики ферментативного разложения *L*-серина и β -хлор-*L*-аланина определяли количество пирувата, образующегося в ходе реакции с катализируемой лактатдегидрогеназой (ЛДГ) с участием NADH. Реакционные смеси содержали 0.2 мМ NADH, 8 ед. ЛДГ и 0.2 мкМ ТИЛ в 0.1 М калий-фосфатных или боратных буферных растворах в присутствии 0.1 мМ ПЛФ при различных рН и переменных концентрациях субстратов. Скорость определяли при 30°C по снижению поглощения NADH при 340 нм ($\epsilon = -6220$).

Исследование изотопного эффекта растворителя (ИЭР)

Калий-фосфатный буферный раствор (рН 8.2, 20 мл) упаривали при пониженном давлении досуха. Остаток высушивали в вакууме над $CaCl_2$ и растворяли в 20 мл 2H_2O . В полученном буферном растворе исследовали кинетику разложения субстратов в условиях, аналогичных описанным для водных растворов.

В результате сопоставления кинетических параметров, определенных в буферных растворах, в воде и в 2H_2O , получены данные, представленные в таблице.

Изотопный эффект растворителя на кинетические параметры реакций ТИЛ с *L*-серином и β -хлор-*L*-аланином

| Субстрат | Параметр | ИЭР |
|---------------------------------|----------|---------------|
| <i>L</i> -серин | V/K | 3.5 ± 0.5 |
| <i>L</i> -серин | V | 0.8 ± 0.2 |
| β -хлор- <i>L</i> -аланин | V/K | 2.2 ± 0.5 |
| β -хлор- <i>L</i> -аланин | V | 3.6 ± 1.2 |

Данные стационарной кинетики анализировали с использованием FORTRAN программ Келланда [26].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе мы определяли pH-зависимость основных кинетических параметров реакций ТИЛ с *L*-серином и β-хлор-*L*-аланином и сопоставляли полученные данные с данными для реакции ТИЛ с природным субстратом, *L*-триптофаном [13]. В этой реакции pH-зависимость параметра V/K описывается уравнением (1) с двумя pK , равными 7.6 и 6.0 [13].

$$\frac{k_{cat}}{K_m} = \frac{C}{1 + \frac{H}{K_a} + \frac{H^2}{K_a^1 K_a^2}}, \quad (1)$$

где $pK_a^1 = 7.6 \pm 0.09$, $K_a^2 = 6.0 \pm 0.2$.

При этом значение 7.6 может быть приписано группе Lys270, ответственной за отрыв C_α -протона во внешнем альдимине, а значение 6.0 – боковой группе Asp137, взаимодействующей с азотом индольного кольца на стадии связывания субстрата [15, 17], что приводит к активации индольного фрагмента в качестве уходящей группы.

Мы установили, что в реакции с *L*-серином pH-зависимость V/K (рис. 1) описывается уравнением (2) с одним pK , равным 7.6.

$$\frac{k_{cat}}{K_m} = \frac{C}{\left(1 + \frac{H}{K_a}\right)}, \quad (2)$$

где $pK_a = 7.6 \pm 0.1$.

Таким образом, ионизация кислотной группы Asp137, участвующей в активации уходящей группы в реакции с природным субстратом, не находит отражения в pH-зависимости в случае ре-

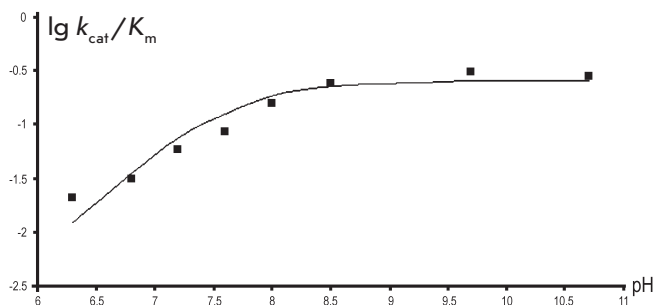


Рис. 1. pH-зависимость V/K в реакции ТИЛ с *L*-серином. Точки – экспериментальные значения, полученные в результате обработки данных с использованием уравнения Михаэлиса–Ментен. Кривая – теоретические значения, описываемые уравнением (2), где $pK_a = 7.6$

акции с *L*-серином. Можно предполагать, что конформация серина в активном центре аналогична конформации триптофана в том смысле, что положение гидроксильного кислорода серина строго соответствует положению C_γ -атома индольного кольца. В этом случае, согласно рентгеноструктурным данным [20], близким соседом гидроксильного кислорода должна быть фенольная группа Tyr74, которая цепочкой водородных связей [20] связана с Lys270. В ходе α,β-элиминирования протон от аммониевой группы Lys270 по цепочке водородных связей переходит к остатку Tyr74, который отдает свой протон гидроксилу серина, отщепляющемуся в виде воды. При этом ионогенное состояние всех участников процесса, за исключением Lys270, остается неизменным. По всей вероятности, в используемом интервале pH фенольная группа остатка Tyr74 остается в необходимой для осуществления реакции кислотной форме, чем и объясняется отсутствие соответствующего pK в pH-зависимости.

На рис. 2 представлена pH-зависимость параметра k_{cat} в реакции ТИЛ с *L*-серином. Эта зависимость описывается уравнением с двумя близкими значениями pK (уравнение (1)), где $pK_a^1 = pK_a^2 = 6.3 \pm 0.1$. В то же время в реакции с *L*-триптофаном установлено [13], что параметр k_{cat} не зависит от pH. Это свидетельствует о том, что субстрат связывается только с формой фермента, находящейся в правильном ионогенном состоянии. Образующийся при этом фермент-субстратный комплекс недоступен для проникновения протонов из окружающей среды. По-видимому, в реакции с *L*-серином боковая группа занимает меньший объем в активном центре фермента, так что катионы гидроксония из окружа-

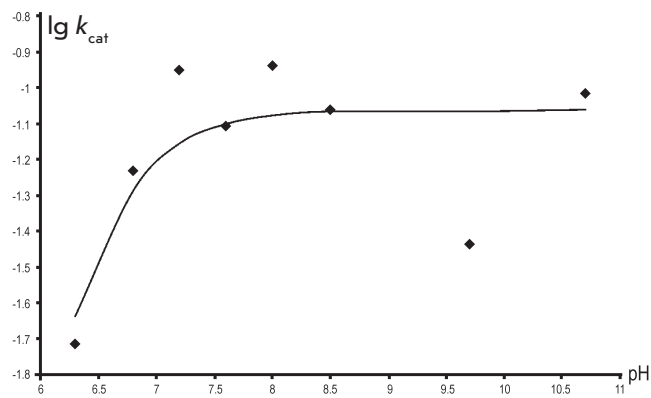


Рис. 2. pH-зависимость V в реакции ТИЛ с *L*-серином. Точки – экспериментальные значения, полученные в результате обработки данных с использованием уравнения Михаэлиса–Ментен. Кривая – теоретические значения, описываемые уравнением (1), где $pK_a = pK_b = 6.3$

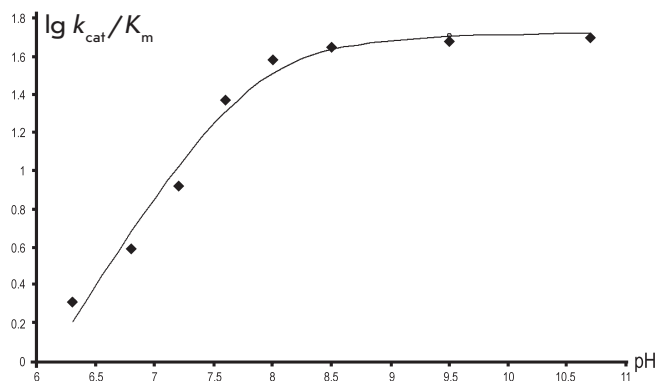


Рис. 3. pH-зависимость V/K в реакции ТИЛ с β -хлор- L -аланином. Точки – экспериментальные значения, полученные в результате обработки данных с использованием уравнения Михаэлиса–Ментен. Кривая – теоретические значения, описываемые уравнением (2), где $pK_a = 7.6$

ющего раствора способны проникать в него, протонируя определенные функциональные группы внутри активного центра, что исключает возможность каталитической реакции.

Мы показали, что в реакции ТИЛ с β -хлор- L -аланином pH-зависимость параметра V/K практически идентична аналогичной зависимости в реакции с L -серином (рис. 3). Зависимость описывается уравнением с одним pK_a (уравнение (2)), равным 7.6 ± 0.1 . В то же время pH-зависимость V (рис. 4) имеет принципиально иной, колоколообразный, характер и описывается уравнением (3):

$$k_{\text{cat}} = \frac{C}{\left(1 + \frac{H}{K_a} + \frac{K_b}{H}\right)}, \quad (3)$$

где $pK_a = 6.7 \pm 0.2$; $pK_b = 10.3 \pm 0.2$.

Как отмечалось ранее, реакция с β -хлор- L -аланином, по всей вероятности, протекает без активации уходящей группы, которая элиминируется, как анион хлора. Поэтому ситуация в активном центре сразу после отщепления Cl^- должна быть существенно иной, чем в реакции с L -серином, поскольку протон, первоначально связанный с C_α -атомом субстрата, в случае β -хлор- L -аланина остается в активном центре, а в случае L -серина удаляется из активного центра вместе с уходящей группой. Можно предполагать, что значение $pK_b = 10.3$, наблюдаемое в реакции с β -хлор- L -аланином, в pH-зависимости V отражает диссоциацию именно этого дополнительного протона в фермент-субстратном комплексе. При этом снижение V очевидно отражает определенную каталитическую функцию, которую соответствующая кислотная группа выполняет в ходе

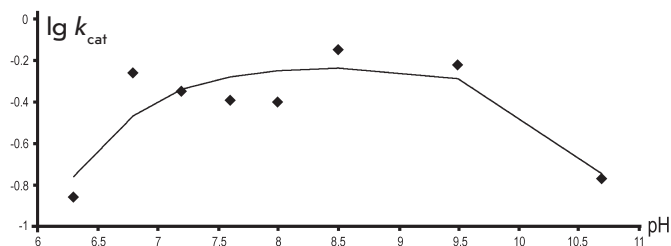
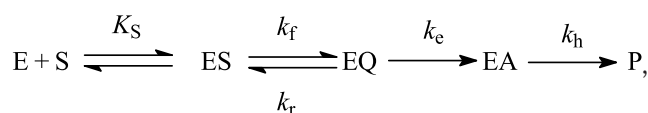


Рис. 4. pH-зависимость V в реакции ТИЛ с β -хлор- L -аланином. Точки – экспериментальные значения, полученные в результате обработки данных с использованием уравнения Михаэлиса–Ментен. Кривая – теоретические значения, описываемые уравнением (3), где $pK_a = 6.7$, $pK_b = 10.3$

каталитических трансформаций, имеющих место после элиминирования аниона хлора.

С целью более детального изучения роли различных элементарных стадий в механизмах реакций с разными субстратами мы рассмотрели кинетику этих реакций в 2H_2O в области pH-оптимума и определили влияние изотопных эффектов, обусловленных сменой растворителя, на основные кинетические параметры. Эти результаты представлены в таблице.

В отличие от реакции ТИЛ с природным субстратом, реакции с L -серином и β -хлор- L -аланином проходят только в направлении распада субстратов, но не их синтеза. Таким образом, в данном случае α, β -элиминирование, приводящее к образованию аминокрилатного интермедиата в активном центре, необратимо. С учетом этого мы рассматривали механизм обеих реакций в рамках следующей кинетической схемы:



где E – внутренний альдимин; ES – внешний альдимин; EQ – хиноидный интермедиат; EA – аминокрилатный комплекс; P – продукт реакции (пируват).

В представленной кинетической схеме основные кинетические параметры описываются уравнениями (4) и (5):

$$\frac{k_{\text{cat}}}{K_m} = \frac{k_e k_f}{K_s (k_e + k_r)}, \quad (4)$$

$$k_{\text{cat}} = \frac{k_h k_e k_f}{k_h (k_f + k_e) + k_e k_f}. \quad (5)$$

Можно видеть, что в реакции ТИЛ с L -серином изотопный эффект растворителя на параметр составляет 3.5 (таблица). Среди констант, входящих

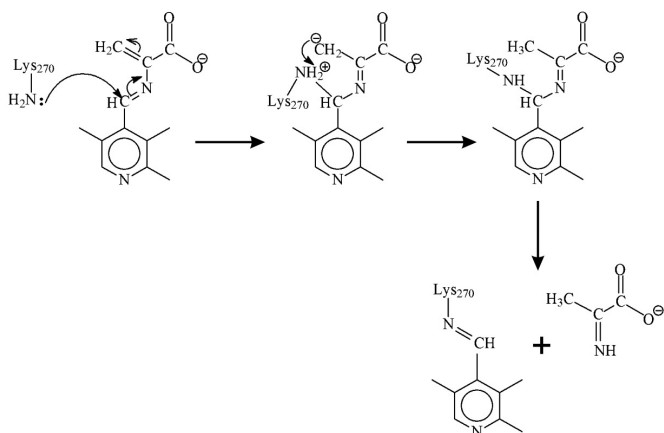


Рис. 5. Вероятная схема гидролиза аминокрилата в реакции ТИЛ с *L*-серином

в уравнение (4), величина k_e не является изотоп-чувствительной, если происходит прямой отрыв S_α -протона под действием аминогруппы Lys270. Величина k_t должна быть изотоп-чувствительной, поскольку эта константа отражает репротонирование S_α -атома хиноидного интермедиата под действием аммониевой группы Lys270, содержащей в $^2\text{H}_2\text{O}$ не менее двух дейтериев, и трех – в случае достаточно быстрого изотопного обмена с растворителем. Однако, как следует из уравнения (4), этот эффект должен приводить к ускорению реакции в $^2\text{H}_2\text{O}$, тогда как в действительности наблюдается ее замедление. Можно заключить, что единственная стадия, определяющая наблюдаемый изотопный эффект растворителя, – элиминирование уходящей гидроксильной группы, поскольку эта стадия предполагает перенос протона от Lys270 через цепочку водородных связей к Tyr74, а затем к гидроксильному кислороду. При замене обычной воды на $^2\text{H}_2\text{O}$ все протоны, участвующие в этом переносе, обмениваются на дейтероны, и процесс, естественно, должен замедляться. Как видно из *таблицы*, изотопный эффект растворителя на параметр V в пределах ошибки опыта не отличается от единицы. Это, по всей вероятности, связано с появлением в уравнении (5), описывающем величину параметра k_{cat} , новой константы k_h , определяющей скорость гидролиза аминокрилата и отсутствующей в (4). Как видно из *таблицы*, изотопный эффект растворителя на параметр k_{cat} не отличается от единицы в пределах ошибки опыта. Легко видеть, что при условии $k_h(k_t + k_r) \ll k_e k_t$ значение k_{cat} можно считать равным k_h ($k_{\text{cat}} \sim k_h$). По-видимому, величина k_h является, с одной стороны, скоростью лимитирующей, а с другой, нечувствительной к изотопному эффекту растворителя.

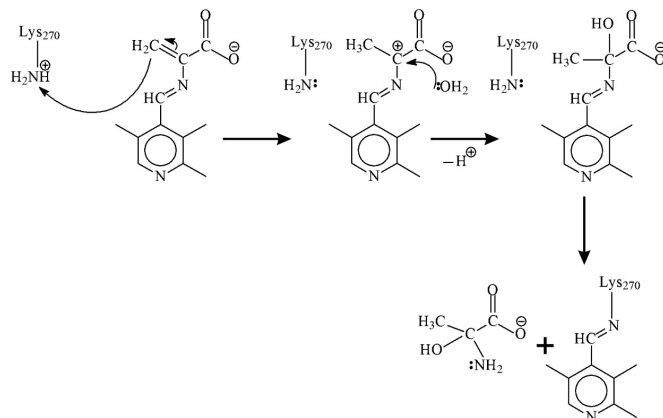


Рис. 6. Возможная схема гидролиза аминокрилата в реакции ТИЛ с β -хлор-*L*-аланином

В реакции ТИЛ с β -хлор-*L*-аланином отщепление уходящей группы должно происходить без перемещения протона к отщепляющемуся аниону хлора, поэтому стадия, описываемая константой k_e , не должна быть изотоп-чувствительной. Все, что говорилось выше о константах k_t и k_r в реакции с *L*-серином, должно быть справедливо и в реакции с β -хлор-*L*-аланином. Таким образом, следовало бы ожидать отсутствия изотопного эффекта растворителя на параметр V/K . На самом деле здесь также наблюдается изотопный эффект, равный 2.2. Возможное объяснение этого связано с тем, что стадия отрыва S_α -протона (k_t) может проходить не напрямую, а через молекулу (или молекулы) воды, что при замене обычной воды на $^2\text{H}_2\text{O}$ должно приводить к снижению скорости стадии с k_t . Вообще говоря, аналогичная ситуация может наблюдаться и в реакции с *L*-серином. В таком случае изотопный эффект растворителя на параметр V/K может быть связан не только со стадией образования аминокрилата.

В реакции ТИЛ с β -хлор-*L*-аланином изотопный эффект растворителя на параметр V составляет 3.6 (см. *таблицу*). Таким образом, появление в уравнении (5) константы скорости гидролиза аминокрилата (k_h) приводит к заметному увеличению изотопного эффекта, а не к его исчезновению, как в случае *L*-серина. Можно, следовательно, заключить, что в реакции с β -хлор-*L*-аланином гидролиз аминокрилата является изотоп-чувствительной стадией, и механизм гидролиза существенно иной, чем в реакции с *L*-серином.

В реакции с *L*-серином на стадии гидролиза аминокрилата Lys270 находится в нейтральной форме, и гидролиз может проходить в соответствии со схемой, где лимитирующей стадией является ата-

ка аминокислоты лизина по альдиминной двойной связи аминокрилатного интермедиата (см. рис. 5). Поскольку в ходе лимитирующей стадии не происходит передачи протонов, способных обмениваться на дейтероны, стадия гидролиза не должна быть чувствительной к изучаемой смене растворителя. С другой стороны, в реакции с β -хлор-*L*-аланином стадией, лимитирующей гидролиз аминокрилата, является формальное протонирование метиленовой группы аминокрилата аммониевой группой Lys270, содержащей дополнительный протон (см. рис. 6). По всей вероятности, перенос протона осуществляется по цепочке водородных связей. Поскольку протоны аммониевой группы, как и протоны в цепочке водородных связей, способны к изотопному обмену с растворителем, гидролиз должен быть изотоп-чувствительной стадией, что, по-видимому, и наблюдается в действительности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные нами результаты показывают, что изменение нуклеофильного характера уходящей группы в субстратах ТИЛ приводит к изменению механизмов не только непосредственно элиминирования данной группы, но и последующей стадии гидролиза аминокрилата. ●

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-04-00947). Спектральные исследования и элементный анализ проведены при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации с использованием научного оборудования Центра исследования строения молекул ИНЭОС РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ivanov V.I., Karpeisky M.Ya. // Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 1969. V. 32. P. 21–53.
- Lee M., Phillips R.S. // Bio. Med. Chem. 1995. V. 3. № 2. P. 195–205.
- Faleev N.G., Gogoleva O.I., Dementieva I.S., Zakomirdina L.N., Belikov V.M. // Biochem. Mol. Biol. Int. 1994. V. 34. № 1. P. 209–216.
- Harris A.P., Phillips R.S. // FEBS J. 2013. V. 280. № 8. P. 1807–1817.
- Suelter C.H., Wang J., Snell E.E. // FEBS Lett. 1976. V. 66. № 2. P. 230–232.
- Watanabe T., Snell E.E. // J. Biochem. (Tokyo) 1977. V. 82. № 3. P. 733–745.
- Phillips R.S. // Arch. Biochem. Biophys. 1987. V. 256. № 1. P. 302–310.
- Dementieva I.S., Zakomirdina L.N., Sinitzina N.I., Antson A.A., Wilson K.S., Isupov M.N., Lebedev A.A., Harutyunyan E.H. // J. Mol. Biol. 1994. V. 235. № 2. P. 783–785.
- Kogan A., Gdalevsky G.Y., Kohen-Luria R., Parola A.H., Golgur Y. // Acta Cryst. 2004. D60. Pt 11. P. 2073–2075.
- Tsesin N., Kogan A., Gdalevsky G., Himanen J.-P., Cohen-Luria R., Parola A., Goldgur Y., Almog O. // Acta Cryst. D. Biol. Cryst. 2007. V. 63. Pt. 9. P. 969–974.
- Isupov M.N., Antson A.A., Dodson E.J., Dodson G.G., Dementieva I.S., Zakomirdina L.N., Wilson K.S., Dauter Z., Lebedev A.A., Harutyunyan E.H. // J. Mol. Biol. 1998. V. 276. № 3. P. 603–623.
- Phillips R.S., Miles E.W., Cohen L.A. // Biochemistry. 1984. V. 23. № 25. P. 6228–6234.
- Kiik D.M., Phillips R.S. // Biochemistry. 1988. V. 27. № 19. P. 7339–7344.
- Phillips R.S. // J. Am. Chem. Soc. 1989. V. 111. № 2. P. 727–730.
- Phillips R.S. // Biochemistry. 1991. V. 30. № 24. P. 5927–5934.
- Phillips R.S., Sundararaju B., Faleev N.G. // J. Amer. Chem. Soc. 2000. V. 122. № 6. P. 1008–1014.
- Demidkina T.V., Antson A.A., Faleev N.G., Phillips R.S., Zakomirdina L.N. // Mol. Biol. 2009. V. 43. № 2. P. 269–283.
- Demidkina T.V., Zakomirdina L.N., Kulikova V.V., Dementieva I.S., Faleev N.G., Ronda L., Mozzarelli A., Gollnick P.D., Phillips R.S. // Biochemistry. 2003. V. 42. № 38. P. 11161–11169.
- Kulikova V.V., Zakomirdina L.N., Bazhuina N.P., Dementieva I.S., Faleev N.G., Gollnick P.D., Demidkina T.V. // Biochemistry (Moscow). 2003. V. 68. № 11. P. 1181–1188.
- Phillips R.S., Buisman A.A., Choi S., Hussaini A., Wood Z.A. // Acta Crystallogr. D Struct. Biol. 2018. V. 74(Pt 8). P. 748–759. doi: 10.1107/S2059798318003352.
- Vederas J.C., Schleicher E., Tsai M.D., Floss H.G. // J. Biol. Chem. 1978. V. 253. № 15. P. 5330–5334.
- Phillips R.S., Gollnick P.D. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. № 18. P. 10627–10632.
- Dua R.K., Taylor E.W., Phillips R.S. // J. Amer. Chem. Soc. 1993. V. 115. № 4. P. 1264–1270.
- Kagamiyama H., Wada H., Matsubara H., Snell E.E. // J. Biol. Chem. 1972. V. 247. № 5. P. 1571–1575.
- Phillips R.S., Ravichandran K., von Tersch R.L. // Enz. Microb. Technol. 1989. V. 11. № 2. P. 80–83.
- Cleland W.W. // Methods Enzymol. 1979. V. 63. P. 103–138.