

УДК 577.151

Взаимодействие трансаминазы D-аминокислот из *Haliscomenobacter hydrossis* с 3-аминооксипропионовой кислотой: спектральный и структурный анализ

А. К. Бакунова¹, И. О. Матюта¹, А. Ю. Николаева^{1,2}, К. М. Бойко¹, А. Р. Хомутов³,
Е. Ю. Безсуднова^{1*}, В. О. Попов^{1,4}

¹Институт биохимии имени А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, 119071 Россия

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, 123182 Россия

³Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991 Россия

⁴Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119234 Россия

*E-mail: eubez@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 21.08.2024

Принята к печати 18.09.2024

DOI: 10.32607/actanaturae.27496

РЕФЕРАТ Пиридоксаль-5'-фосфат-зависимые ферменты занимают ключевое место в азотистом обмене. Среди многочисленных и специфических ингибиторов этих ферментов, включая и практически значимые, важное место отводится карбонильным соединениям, в том числе и O-замещенным гидроксил-аминам, которые реагируют в активном центре ферментов с пиридоксаль-5'-фосфатом с образованием стабильных оксимов. Использование эфиров гидроксиламина, имитирующих строение боковых групп субстратов аминокислот, позволяет получать высокоэффективные и специфические ингибиторы соответствующих ферментов. В настоящей работе этот подход применили к изучению свойств трансаминазы D-аминокислот из бактерии *Haliscomenobacter hydrossis*. Структурный и спектральный анализ комплекса этой трансаминазы с 3-аминооксипропионовой кислотой позволил уточнить особенности организации и функционирования ее активного центра и один из механизмов ингибирования специфическим субстратом D-глутаминовой кислотой.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА трансаминаза, ферментативный катализ, кристаллическая структура, ингибитор, 3-аминооксипропионовая кислота.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ NADH – восстановленная форма никотинамидадениндинуклеотида; ПЛФ – пиридоксаль-5'-фосфат; ТА – трансаминаза; ТА_Halhy – трансаминаза D-аминокислот из *Haliscomenobacter hydrossis*.

ВВЕДЕНИЕ

Пиридоксаль-5'-фосфат (ПЛФ)-зависимые трансаминазы (аминотрансферазы, ТА, КФ [2.6.1.X]) катализируют перенос аминокислоты с аминокислоты или амина на кетокислоту или кетон с образованием новой аминокислоты/амина и кетокислоты/кетона [1, 2]. Ферментативное трансаминирование – это реакция последовательного двойного замещения с промежуточным переносом аминокислоты на кофактор ПЛФ, в результате которой образуется пиридоксамин-5'-фосфат, служащий донором аминокислоты во второй полуреакции. Два субстрата (амино- и кетокислота) последовательно связыва-

ются в одной области активного центра, все стадии реакции обратимы [1, 3]. Трансаминазы как стереоселективные катализаторы переноса аминокислоты успешно применяются для асимметрического аминирования соединений с кетогруппой и разделения хиральных первичных аминов [4, 5]. Из семи типов укладки полипептидной цепи ПЛФ-зависимых ферментов для ТА характерны только два – I и IV. Подробно изучены механизм действия и структура фермента (S)-селективного трансаминирования – функционального димера ТА I типа укладки. Трансаминазы IV типа укладки охарактеризованы в меньшей степени. Интересно, что среди них обна-

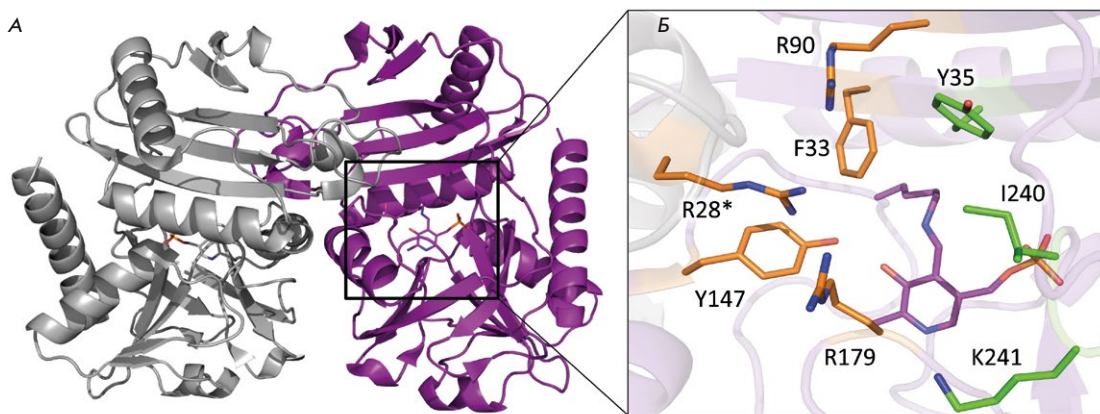


Рис. 1. Пространственная структура TA_Halhy. А – гомотимер TA_Halhy; Б – активный центр TA_Halhy. Аминокислотные остатки, образующие О-карман, окрашены оранжевым, аминокислотные остатки, образующие Р-карман, окрашены зеленым. Молекула ПЛФ показана фиолетовым. * – остаток соседней субъединицы функционального димера

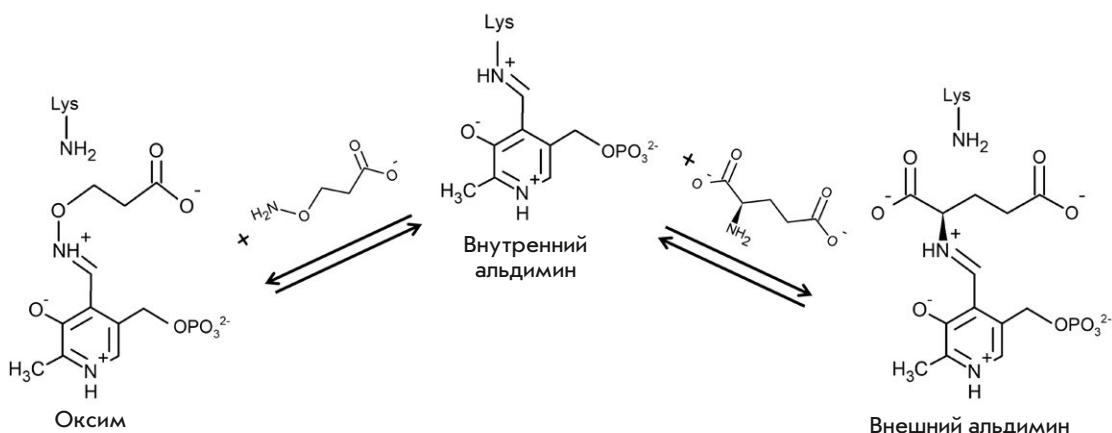
ружены как (*S*)-селективные (это трансминазы разветвленных L-аминокислот), так и (*R*)-селективные ферменты (трансминазы D-аминокислот и (*R*)-амин:пируваттрансминазы). Именно (*R*)-селективность определила интерес к изучению TA IV типа укладки в последнее десятилетие.

Карбонильные реагенты, включая производные гидроксилamina, представляют собой типовые ингибиторы ПЛФ-зависимых ферментов. Один из алгоритмов создания высокоэффективных и избирательно действующих ингибиторов на основе эфиров гидроксилamina ($R-OH_2$) заключается в использовании производных, имитирующих строение боковых групп субстратов аминокислот. При этом функциональные группы в радикале O-замещенного гидроксилamina обеспечивают субстратоподобное связывание ингибитора в активном центре фермента, а реакционноспособная аминоксигруппа образует оксим с ПЛФ. Этот подход позволяет получать ингибиторы с константой связывания наномолярной величины не только для ТА, например, аспаратаминотрансферазы [6, 7], но и для декарбоксилаз, например, глутаминовой кислоты [8], орнитина [9] и аргинина [10]. Следует отметить, что использование гидроксилaminосодержащих аналогов путресцина и агматина позволяет избирательно ингибировать близкородственные декарбоксилазы орнитина и аргинина [10]. Структурное подобие внешнего альдимина, одного из промежуточных соединений в ПЛФ-катализируемых превращениях аминокислот, и оксима ПЛФ, образованного субстрато/продуктоподобными гидроксилaminaми, впервые подтверждено рентгеноструктурным анализом фермент-ингибиторных комплексов аспаратаминотрансферазы [6, 7]. Позднее аналогичные исследования были выполнены для трансминазы гамма-аминомасляной кислоты [11], орнитиндекарбоксилазы [12] и трансминазы D-аминокислот [13]. Структуры ком-

плексов ПЛФ-зависимых ферментов с такими производными гидроксилamina позволяют анализировать строение, особенности связывания субстрата и функционирования активного центра ферментов. В настоящей работе этот подход использовали в исследовании трансминазы D-аминокислот из *Haliscomenobacter hydrossis* (TA_Halhy). TA_Halhy относится к TA IV типа укладки, она эффективно катализирует реакции трансминирования между D-аминокислотами и α -кетокислотами, удельная активность в реакции между D-глутаматом и пируватом в 50-мМ К-фосфатном буфере pH 8.0, достигает рекордно высоких для ТА значений – 380 ± 10 мкмоль/мин на 1 мг белка при 40°C [14, 15]. Определена структура этого фермента, функциональной единицей которого является димер (*рис. 1А*). Как и у изученных ТА IV типа укладки, активный центр TA_Halhy можно поделить на две части (O- и P-карманы), аминокислотные остатки этих карманов участвуют в связывании субстратов и тем самым определяют стереоспецифичность каталитического превращения (*рис. 1Б*). TA_Halhy выделяется среди известных ТА IV типа укладки четырьмя положительно заряженными функциональными группами в активном центре (боковыми группами аминокислотных остатков Arg28*, Arg90, Arg179 и Lys241) [14, 16] (*рис. 1Б*).

Результаты анализа структуры комплекса TA_Halhy с ингибитором D-циклосерином позволили предположить участие боковых групп остатков Arg28* и Arg179 в связывании субстрата [17]. Поскольку структуру комплекса TA_Halhy с субстратами получить не удалось (из-за высокой эффективности превращения аминокислот в катализируемых TA_Halhy реакциях, кристаллизация с субстратами приводит к получению апофермента), исследование строения активного центра TA_Halhy было продолжено путем анализа взаимодействия

Рис. 2. Взаимодействие внутреннего альдимида ТА_Halhy (холофермент) с 3-аминооксипропионовой кислотой (образуется оксим) и D-глутаминовой кислотой (образуется внешний альдимин)



фермента с 3-аминооксипропионовой кислотой (аналог субстрата D-глутаминовой кислоты) методами UV/Vis-спектрофотометрии и рентгеноструктурного анализа. 3-Аминооксипропионовая кислота взаимодействует в активном центре ТА_Halhy с ПЛФ с образованием оксима, который имитирует внешний альдимин между ПЛФ и D-глутаминовой кислотой (рис. 2), поэтому успешная кристаллизация и решение структуры комплекса позволяют определить функциональные группы, задействованные в связывании этого специфического субстрата.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Получение рекомбинантной ТА_Halhy

Очищенный активный рекомбинантный препарат ТА_Halhy получали как описано ранее [14]. Чистоту и гомогенность препарата контролировали методом электрофореза в денатурирующем полиакриламидном геле (ДДС-ПААГ). Концентрацию ТА_Halhy определяли спектрофотометрически по поглощению при 280 нм.

Спектральный анализ

ПЛФ-форму ТА_Halhy (холофермент) получали путем инкубации фермента (2.5 мг/мл, или 74 мкМ) в 50-мМ К-фосфатном буфере (рН 8.0) с избытком ПЛФ (700 мкМ) в присутствии 10 мМ α -кетоглутарата в течение 30 мин. Холофермент очищали от низкомолекулярных компонентов переводом в 50-мМ К-фосфатный буфер рН 8.0, используя колонку HiTrap Desalting (Cytiva, США), уравновешенную в том же буфере.

К холоферменту (0.85 мг/мл, или 25 мкМ) в 50-мМ К-фосфатном буфере, рН 8.0, добавляли 3-аминооксипропионовую кислоту (10 мМ) и выдерживали смесь в течение 60 мин. Белковую фракцию отделяли от низкомолекулярных компонентов, используя колонку HiTrap Desalting. Дополнительно фракцию низкомолекулярных компонентов получали ультра-

фильтрацией с использованием центрифужного концентратора (30 кДа MWCO, Millipore, США). Спектры поглощения регистрировали в 50-мМ К-фосфатном буфере, рН 8.0, с помощью спектрофотометра Evolution 300 UV-Vis (Thermo Scientific, США).

Ингибирование субстратом

Реакцию трансаминирования, катализируемую ТА_Halhy, проводили в 50-мМ К-фосфатном буфере, рН 8.0, при 40°C с субстратами D-аланином (40 мМ) и α -кетоглутаратом или D-глутаматом и пируватом (2.5 мМ) с добавлением 30 мкМ ПЛФ, 0.33 мМ NADH, 5 мкг/мл лактатдегидрогеназы (удельная активность препарата составляет 200 мкмоль/мин на 1 мг белка). В условиях реакции трансаминирования препарат лактатдегидрогеназы был стабилен. Температурной инактивации ТА_Halhy при 40°C не наблюдалось [14].

Получение кристаллов комплекса ТА_Halhy с оксимом ПЛФ и 3-аминооксипропионовой кислоты

Кристаллы комплекса получены сокристаллизацией препарата холофермента ТА_Halhy с 12 мМ 3-аминооксипропионовой кислоты в присутствии избытка ПЛФ (6 мМ) в условиях: 0.1 М бис-Трис-пропан рН 5.5, 0.2 М $MgCl_2$, 25% PEG 3350.

Сбор и обработка дифракционных данных.

Решение и уточнение структуры

Непосредственно перед рентгеноструктурным экспериментом кристаллы ТА_Halhy помещали в криораствор, содержащий помимо компонентов противораствора 25% (v/v) глицерин, после чего кристалл в петле замораживали в парах азота. Дифракционные данные, собранные при температуре 100 К на станции «Белок» синхротронного источника НИЦ «Курчатовский институт», обрабатывали с использованием программы Dials [18] из пакета CCP4 [19]. Статистика собранного набора данных

Таблица 1. Статистика сбора, обработки и кристаллографического уточнения структуры комплекса TA_Halhy с оксимом ПЛФ и 3-аминооксипропионовой кислоты

Объект исследования	Комплекс TA_Halhy
Источник рентгеновского излучения	НИЦ «Курчатовский институт»
Длина волны, Å	0.74503
Температура, К	100
Обработка	
Пространственная группа	C2
Параметры элементарной ячейки	a = 88.77 Å, b = 71.23 Å, c = 52.55 Å; $\alpha = \gamma = 90^\circ$, $\beta = 101.26^\circ$
Разрешение, Å	35.34–1.70 (1.73–1.70)
Число независимых рефлексов	32789 (1795)
Полнота, %	94.9 (98.6)
R _{meas} , %	10.1 (54.6)
Среднее I/ σ (I)	11.4 (1.9)
CC _{1/2} , %	99.1 (60.2)
Уточнение	
R _{work} , %	16.6
R _{free} , %	21.0
Общий средний B-фактор	17.9
Средний B-фактор по белку	16.8
Средний B-фактор по лигандам	16.5
Средний B-фактор по растворителю	26.2
Число неводородных атомов	
Всего	2607
Белок	2275
Лиганды	23
Растворитель	309
Среднеквадратичные отклонения	
Длины связей, Å	0.01
Валентные углы, °	1.67
График Рамачандрана	
Наиболее благоприятные, %	98.2
Допустимые, %	1.8
PDB ID	8YRV

приведена в табл. 1. Решение структуры проведено методом молекулярного замещения при помощи программы MOLREP [20]. Уточнение проведено в программе REFMAC5 [21]. В качестве стартовой модели использовали структуру холоформы трансаминазы D-аминокислот из *H. hydrossis* (PDB код 7P7X). Визуальный анализ структурных данных проводили с использованием программ Coot [22] и PyMOL Molecular Graphics System, Version 4.6 (Schrödinger, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектральный анализ взаимодействия TA_Halhy с 3-аминооксипропионовой кислотой

На рис. 3 представлены спектры холофермента TA_Halhy (25 мкМ) в 50-мМ К-фосфатном буфе-

ре, pH 8.0, сразу после добавления 10 мМ 3-аминооксипропионовой кислоты и инкубации при 25°C в течение 1 ч. Наблюдаемые изменения указывают на образование оксима ПЛФ и 3-аминооксипропионовой кислоты в активном центре TA_Halhy (спектр с $\lambda_{\max} = 380$ нм) и выход оксима из активного центра в раствор (спектр с $\lambda_{\max} = 333$ нм соответствует спектру оксима ПЛФ и H₂NOR в растворе [23]). Из рис. 3Б видно, что спектр TA_Halhy после перевода в новый буфер через 1 ч инкубирования соответствует апоферменту (без ПЛФ и его аддуктов). Добавление ПЛФ в полученный раствор апофермента приводит к образованию холофермента и полному восстановлению активности TA_Halhy.

Быстрое образование оксима ПЛФ с 3-аминооксипропионовой кислотой в активном центре TA_Halhy (рис. 3А, спектр с $\lambda_{\max} = 380$ нм) хорошо согласо-

ется с известными данными о том, что основания Шиффа, в данном случае внутренний альдимин, реагируют с О-замещенными гидроксилами намного быстрее чем соответствующий альдегид [24]. При этом эффективность ингибирования ТА О-замещенными гидроксилами определяется структурным подобием радикала О-замещенного гидроксиламина и боковой группы субстрата аминокислоты, а также прочностью связывания ПЛФ с активным центром фермента [8–10, 25, 26]. Так, аспаратаминотрансфераза образует прочные оксимы с аминоксиуксусной и 3-аминооксипропионовой кислотами, моделирующими внешние альдимины с субстратами, аспарагиновой и глутаминовой кислотами. При этом карбоксильные группы ингибиторов выполняют якорные функции, обеспечивая дополнительное связывание оксимов в активном центре фермента. Удаление избытка этих гидроксиламинов не приводит к выходу оксимов ПЛФ из активного центра фермента, равно как и добавление избытка ПЛФ не восстанавливает активность [6]. Напротив, ТА_Halhy имеет низкое сродство к ПЛФ ($K_{\text{дис}} = 1.9 \pm 0.3$ мкМ [16]) и оксим ПЛФ легко выходит из активного центра (рис. 3). Аналогичная диссоциация наблюдалась при взаимодействии ТА_Halhy с D-циклосерином [17] и фенилгидразином [16], что указывает на открытый активный центр ТА_Halhy, который, по-видимому, сохраняет открытую конформацию в ходе каталитических превращений [14, 16]. Диссоциация комплекса с оксимом приводит к накоплению апофермента (рис. 3Б). Добавление ПЛФ к комплексу ТА_Halhy с оксимом приводит к реактивации фермента, активный холофермент образуется в результате дис-

социации комплекса и выхода оксима из активного центра с образованием апофермента и последующего взаимодействия апофермента с добавленным ПЛФ. Таким образом, ингибирование 3-аминооксипропионовой кислотой обратимо. Реактивация ТА_Halhy при добавлении ПЛФ согласуется с ранее показанной стабильностью апофермента [15].

Мы успешно закристаллизовали комплекс ТА_Halhy с оксимом ПЛФ и 3-аминооксипропионовой кислоты в активном центре. В результате рентгеноструктурного эксперимента собран набор дифракционных данных, структура комплекса ТА_Halhy решена и уточнена. Структуры холофермента и комплекса с оксимом хорошо накладываются (RMSD по C α -атомам составляет 0.31). Отличия наблюдаются в основном в положении петель. Важно отметить, что карбоксильная группа оксима ПЛФ с 3-аминооксипропионовой кислотой располагается в О-кармане, хотя у трансаминаз D-аминокислот IV типа укладки боковая группа субстрата связывается в Р-кармане, а в О-кармане располагается α -карбоксильная группа субстратов (D-аминокислоты или кетокислоты), которая образует водородные связи с функциональными группами активного центра [27, 28]. В полученной структуре карбоксильная группа оксима образует водородные связи с гуанидиновыми группами остатков Arg28* и Arg179. Остатки Arg90 и Lys241 не задействованы в связывании карбоксильной группы, боковые группы всех перечисленных остатков не изменили своего положения, геометрия активного центра холофермента сохраняется в структуре комплекса с оксимом (рис. 4А).

Наблюдаемое положение аддукта в активном центре ТА_Halhy имитирует скорее не образование

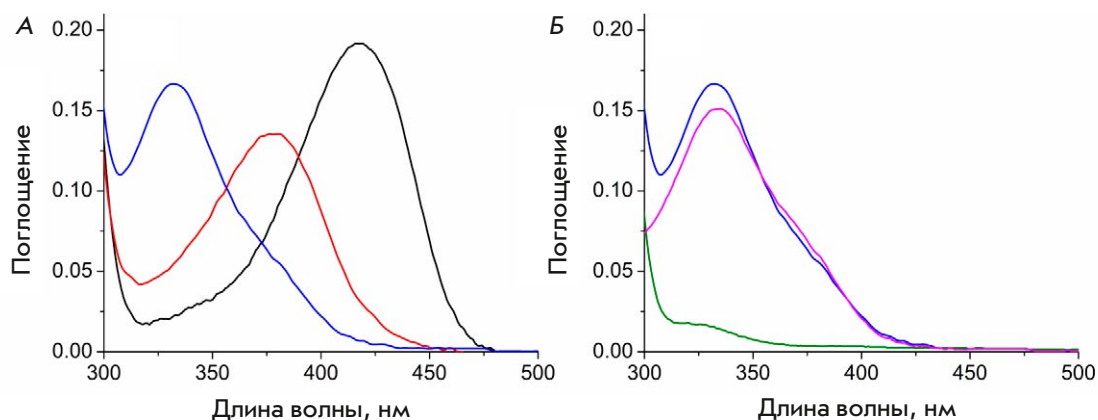


Рис. 3. Взаимодействие холофермента ТА_Halhy (25 мкМ) с 3-аминооксипропионовой кислотой (10 мМ) при 25°С в 50-мМ К-фосфатном буфере, рН 8.0. А – спектр поглощения холофермента ТА_Halhy до (черный), после смешения (красный) и после инкубирования в течение 1 ч (синий) с 3-аминооксипропионовой кислотой; Б – спектр поглощения холофермента ТА_Halhy после 1 ч инкубации с 3-аминооксипропионовой кислотой (синий), после перевода в 50-мМ К-фосфатный буфер, рН 8.0 (зеленый), спектр поглощения низкомолекулярной фракции (розовый), собранной ультрафильтрацией

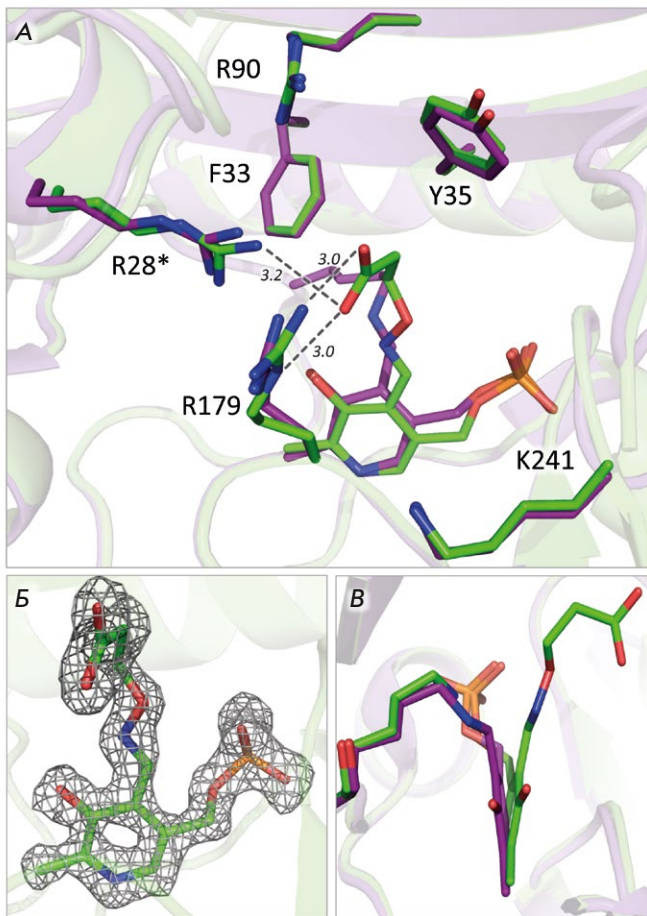


Рис. 4. Активный центр TA_Halhy в комплексе с оксимом ПЛФ и 3-аминоксипропионовой кислоты. А – наложение структур комплекса TA_Halhy (зеленый; PDB код 8YRV) и холофермента TA_Halhy (фиолетовый; PDB код 7P7X), расстояния показаны пунктирной линией и указаны в ангстремах; Б – разностная $omit$ -карта электронной плотности ($F_o - F_c$) для оксима ПЛФ и 3-аминоксипропионовой кислоты. Электронная плотность показана серой сетчатой моделью на срезке 3σ ; В – наложение положений кофактора в структурах холофермента (фиолетовый) и комплекса с оксимом (зеленый)

внешнего альдими́на со специфическим субстратом D-глутаминовой кислотой, а ингибирование субстратом. Известно, что ингибирование субстратом сопутствует катализу трансаминазами из-за сходного связывания субстратов (аминокислоты и кетокислоты). Ингибирование TA_Halhy D-глутаминовой кислотой и α -кетоглутаратом наблюдается уже при миллимолярных концентрациях субстратов (рис. 5). Известно, как минимум, два механизма ингибирования: (1) D-глутаминовая кислота связывается вместо кетосубстрата в активном центре, содержащем кофактор в форме пиридоксамин-5'-фосфата; (2) место α -карбоксильной группы за-

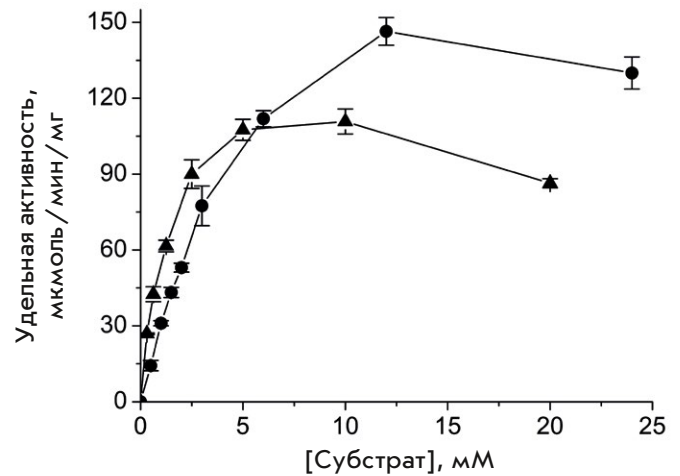


Рис. 5. Ингибирование TA_Halhy в реакции транс-аминирования субстратом D-глутаминовой кислотой в присутствии 2.5 мМ пирувата (\bullet) и субстратом α -кетоглутаратом в присутствии 40 мМ D-аланина (\blacktriangle) в 50-мМ K-фосфатном буфере, pH 8.0, при 40°C. Отрезками обозначено стандартное отклонение

нимает γ -карбоксильная группа D-глутаминовой кислоты или α -кетоглутарата. Именно такое связывание и наблюдается в комплексе (рис. 4А). Такое непродуктивное ингибирующее связывание согласуется с высоким значением наблюдаемой константы диссоциации комплекса TA_Halhy с D-глутаминовой кислотой, определенной методом полуреакций ($K_d = 1.8 \pm 0.4$ мМ [29]).

Стоит также отметить, что в структуре комплекса изменилось положение молекулы ПЛФ: в форме оксима молекула ПЛФ отклонилась ко входу в активный центр на 18° вдоль оси N1-C6 (рис. 4Б,В). Такое изменение положения кофактора наблюдается при переходе из внутреннего альдими́на во внешний (рис. 2) [13, 27]. Полученные данные подтверждают гипотезу о том, что в форме внутреннего альдими́на кофактор находится в напряжении, которое снимается при образовании внешнего альдими́на (разрыва ковалентной связи с боковой группой остатка каталитического лизина) [30] или оксима в случае 3-аминоксипропионовой кислоты. Интересно отметить, что активный центр TA_Halhy остается открытым после образования оксима, что подтверждается выходом оксима в раствор после 1 ч инкубации фермента с избытком 3-аминоксипропионовой кислоты (см. выше). Открытый активный центр наблюдался ранее у TA_Halhy в комплексе с фенилгидразином и в комплексе с D-циклосерином; открытый активный центр наблюдался у гомологичной трансаминазы D-аминокислот из *Aminobacterium colombiense* в комплексах с D-глутаминовой кислотой и 3-аминоксипропионовой кислотой [13] и у канон-

нической трансаминазы D-аминокислот из *Vacillus* sp. УМ-1 в комплексе с D-аланином [27]. Другими словами, стереоселективное трансаминирование у трансаминаз D-аминокислот, по-видимому, происходит без закрытия активного центра (отделения от растворителя), как, например, в случае трансаминаз I типа укладки [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение взаимодействия холофермента трансаминазы D-аминокислот из *H. hydrossis* с 3-аминоксипропионовой кислотой позволило сделать следующие выводы: (1) ингибирование 3-аминоксипропионовой кислотой обратимо; (2) активный центр трансаминазы остается открытым после связывания субстратов/ингибиторов; (3) координация карбоксильной группы оксима в O-кармане подтверждает участие

остатков Arg28* и Arg179 в связывании субстратов, однако, наблюдаемое положение оксима соответствует ингибированию субстратом, когда субстрат (α -кетоглутарат и D-глутаминовая кислота) связываются непродуктивно (γ -карбоксильной группой в O-кармане активного центра), и реакционная аминогруппа субстрата направлена в сторону от ПЛФ и боковой группы каталитического остатка лизина. ●

Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 23-74-30004, в части проведения спектральных и кинетических исследований. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в части кристаллизации комплекса, рентгеноструктурного эксперимента, решения и уточнения структуры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Eliot A.C., Kirsch J.F. // *Annu. Rev. Biochem.* 2004. V. 73. P. 383–415.
- Steffen-Munsberg F., Vickers C., Kohls H., Land H., Mallin H., Nobili A., Skalden L., van den Bergh T., Joosten H.-J., Berglund P., Höhne M., Bornscheuer U.T. // *Biotechnol. Adv.* 2015. V. 33. P. 566–604.
- Braunstein A.E. *Amino Group Transfer. The Enzymes* / Ed. Boyer P.D. London: Acad. Press, 1973. V. 9. P. 379–481.
- Winkler C.K., Schrittwieser J.H., Kroutil W. // *ACS Cent. Sci.* 2021. V. 7. P. 55–71.
- Madsen J.Ø., Woodley J.M. // *ChemCatChem.* 2023. V. 15. № 13. e202300560.
- Delbaere L.T.J., Kallen J., Markovic-Housley Z., Khomutov A.R., Khomutov R.M., Karpeisky M.Y., Jansonius J.N. // *Biochimie.* 1989. V. 71. P. 449–459.
- Markovic-Housley Z., Schirmer T., Hohenester E., Khomutov A.R., Khomutov R.M., Karpeisky M.Y., Sandmeier E., Christen P., Jansonius J.N. // *Eur. J. Biochem.* 1996. V. 236. P. 1025–1032.
- Сащенко Л.П., Северин Е.С., Хомутов Р.М. // *Биохимия.* 1968. Т. 33. № 1. С. 142–147.
- Хомутов Р.М., Денисова Г.Ф., Хомутов А.Р., Белостоцкая К.М., Шлосман Р.Б., Артамонова Е.Ю. // *Биоорганическая химия.* 1985. Т. 11. № 11. С. 1574–1576.
- Hyvönen M.T., Keinänen T.A., Nuraeva G.K., Yanvarev D. V., Khomutov M., Khurs E.N., Kochetkov S.N., Vepsäläinen J., Zhgun A.A., Khomutov A.R. // *Biomolecules.* 2020. V. 10. P. 406.
- Liu W., Peterson P.E., Carter R.J., Zhou X., Langston J.A., Fisher A.J., Toney M.D. // *Biochemistry.* 2004. V. 43. P. 10896–10905.
- Zhou X.E., Suino-Powell K., Schultz C.R., Aleiwi B., Brunzelle J.S., Lamp J., Vega I.E., Ellsworth E., Bachmann A.S., Melcher K. // *Biochem. J.* 2021. V. 478. P. 4137–4149.
- Shilova S.A., Matyuta I.O., Khrenova M.G., Nikolaeva A.Y., Klyachko N.L., Minyaev M.E., Khomutov A.R., Boyko K.M., Popov V.O., Bezsudnova E.Y. // *Biochem. J.* 2023. V. 480. P. 1267–1284.
- Bakunova A.K., Nikolaeva A.Y., Rakitina T.V., Isaikina T.Y., Khrenova M.G., Boyko K.M., Popov V.O., Bezsudnova E.Y. // *Molecules.* 2021. V. 26. P. 5053.
- Bakunova A.K., Isaikina T.Y., Popov V.O., Bezsudnova E.Y. // *Catalysts.* 2022. V. 12. P. 1551.
- Bakunova A.K., Matyuta I.O., Minyaev M.E., Isaikina T.Y., Boyko K.M., Popov V.O., Bezsudnova E.Y. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2024. V. 756. P. 110011.
- Bakunova A.K., Matyuta I.O., Nikolaeva A.Y., Boyko K.M., Popov V.O., Bezsudnova E.Y. // *Biochem.* 2023. V. 88. P. 687–697.
- Winter G., Waterman D.G., Parkhurst J.M., Brewster A.S., Gildea R.J., Gerstel M., Fuentes-Montero L., Vollmar M., Michels-Clark T., Young I.D., et al. // *Acta Crystallogr. Sect. D Struct. Biol.* 2018. V. 74. P. 85–97.
- Collaborative Computational Project, Number 4 // *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 1994. V. 50. P. 760–763.
- Vagin A., Teplyakov A. // *J. Appl. Crystallogr.* 1997. V. 30. P. 1022–1025.
- Murshudov G.N., Skubák P., Lebedev A.A., Pannu N.S., Steiner R.A., Nicholls R.A., Winn M.D., Long F., Vagin A.A. // *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* 2011. V. 67. P. 355–367.
- Emsley P., Lohkamp B., Scott W.G., Cowtan K. // *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* 2010. V. 66. P. 486–501.
- Morozov V.Y. *Vitamin B – pyridoxal phosphate. Part A.* / Eds Dolphin D., Poulson R., Avramovic O. New York: John Wiley & Sons, 1986. P. 131–222.
- Dirksen A., Dawson P.E. // *Bioconjug. Chem.* 2008. V. 19. P. 2543–2548.
- Castro-Oropeza R., Pino-Ángeles A., Khomutov M.A., Urdiales J.L., Moya-García A.A., Vepsäläinen J., Persson L., Sarabia F., Khomutov A., Sánchez-Jiménez F. // *Amino Acids.* 2014. V. 46. P. 621–631.
- Khomutov A.R., Gabibov A.G., Khurs E.N., Tolosa E.A., Shuster A.M., Goryachenkova E.V., Khomutov R.M. *Biochemistry of Vitamin B6* / Eds Christen P., Korpela T. Basel: Birkhauser, 1987. P. 317–321.
- Peisach D., Chipman D.M., van Ophem P.W., Manning J.M., Ringe D. // *Biochemistry.* 1998. V. 37. P. 4958–4967.
- Shilova S.A., Khrenova M.G., Matyuta I.O., Nikolaeva A.Y., Rakitina T.V., Klyachko N.L., Minyaev M.E., Boyko K.M., Popov V.O., Bezsudnova E.Y. // *Molecules.* 2023. V. 28. P. 2109.
- Bakunova A.K., Kostyukov A.A., Kuzmin V.A., Popov V.O., Bezsudnova E.Y. // *Biochim. Biophys. Acta – Proteins Proteomics.* 2023. V. 1871. P. 140886.
- Hayashi H., Mizuguchi H., Miyahara I., Islam M.M., Ikushiro H., Nakajima Y., Hirotsu K., Kagamiyama H. // *Biochim. Biophys. Acta – Proteins Proteomics.* 2003. V. 1647. P. 103–109.