

СТРУКТУРА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ

УДК 548.73

УПАКОВКА МОЛЕКУЛ В ДВУХ КРИСТАЛЛИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЯХ
МУТАНТА L-АСПАРАГИНАЗЫ *Wolinella succinogenes*© 2020 г. В. И. Тимофеев^{1,2}, Н. Е. Жухлистова¹, И. П. Куранова^{1,2,*}¹Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия²Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

*E-mail: inna@crys.ras.ru

Поступила в редакцию 17.12.2019 г.

После доработки 23.01.2020 г.

Принята к публикации 29.01.2020 г.

Апо-форма L-аспарагиназы *Wolinella succinogenes* (WAS), содержащая две замены V23Q и K24T в N-концевой подвижной петле (WASm) и имеющая на порядок меньшую глутаминазную активность по сравнению с исходным ферментом, закристаллизована в двух модификациях (пр. гр. $P22_12_1$ и $P2_1$), пространственная структура которых определена при разрешении 1.5 и 1.7 Å. Проведено сравнение пространственных структур и упаковок молекул фермента в двух кристаллических модификациях – моноклинной ($P2_1$) и ромбической ($P22_12_1$). Описаны межмолекулярные контакты и каналы с растворителем в обеих кристаллических решетках. Показано, что ромбические кристаллы упакованы более плотно, чем моноклинные, и содержат меньше молекул воды (36.95 и 44.53% соответственно). Однако в обеих структурах активные центры остаются доступными для растворителя.

DOI: 10.31857/S0023476120040244

ВВЕДЕНИЕ

Белки семейства аспарагиназ, относящиеся к классу амидогидролаз (EC 3.5.1.1), катализируют гидролиз аспарагина до аспарагиновой кислоты и аммиака [1]. При физиологических условиях эта реакция практически необратима. Большинство известных бактериальных аспарагиназ также способны гидролизовать L-глутамин с активностью, в некоторых случаях сравнимой с аспарагиназой [2, 3]. L-аспарагиназы относятся к ферментам медицинского значения, которые находят широкое применение в качестве эффективных противоопухолевых средств при лечении острых лимфобластных лейкозов, лимфо- и ретикулосарком. Их ярко выраженная противоопухолевая активность связана с тем, что в ряде опухолевых клеток отсутствует фермент аспарагинсинтетаза, вследствие чего клетки этого типа не способны синтезировать аспарагин и зависят от доставки данной аминокислоты из внешних источников [4, 5], что нарушает биосинтез белка. Существенным недостатком аспарагиназ в качестве медицинских препаратов является их токсичность, частично связанная с наличием глутаминазной активности. L-глутамин играет существенную роль в транспорте азота в крови, и длительное отсутствие этой аминокислоты при аспарагиназной терапии приводит к серьезным нарушениям в организме. Недостатком аспарагиназ является также

их относительно низкая стабильность в условиях применения [6, 7]. В этой связи представляют интерес способы качественного усовершенствования L-аспарагиназ, в первую очередь с целью увеличения времени их действия и оптимизации соотношения специфической аспарагиназной и неспецифической глутаминазной активности [8].

Одним из способов повышения устойчивости аспарагиназ к действию протеиназ является внесение направленных мутаций в аминокислотные последовательности L-аспарагиназ, что осуществляется путем замены аминокислотных остатков, подвергающихся протеолизу, на альтернативные остатки, не узнаваемые соответствующими протеиназами [8–10].

Особый интерес как объект для модификации вызывает L-аспарагиназа бактерий *Wolinella succinogenes* (WAS). Фермент хорошо изучен, обладает доказанным противоопухолевым действием, пониженной токсичностью, протеолитической стабильностью и длительным временем циркулирования в кровотоке [11–15]. L-аспарагиназа *Wolinella succinogenes* отличается от ферментов из *Escherichia coli* и *Erwinia chrysanthemi* предельно низкой глутаминазной активностью, демонстрирует низкие побочные эффекты и высокий уровень противоопухолевой активности, что делает ее наиболее пригодной для медицинского применения [16–20].

Таблица 1. Статистические характеристики набора и уточнения структуры апо-формы аспарагиназы (пр. гр. $P22_12_1$)

PDB ID	6SYH
Разрешение, Å	30.0–1.5 (1.54–1.5)*
Количество рефлексов	79211(5957)
R_{crist} , %	14.0 (17.3)
R_{free} , %	18.7 (23.5)
Средний B -фактор, Å ²	13.97
Количество уточненных атомов	
Белка	4692
Растворителя	292
RMSD длин связей, Å	0.012
RMSD углов, град	1.706
Карта Рамачандрана	
Наиболее благоприятные области, %	99
Допустимые области, %	1
Запрещенные области, %	0.0

*В скобках приведены значения для последней оболочки.

На основе этого фермента создан мутантный вариант рекомбинантной *L*-аспарагиназы *Wolinnella succinogenes* (WASm), в которой аминокислотный остаток валина в положении 23 заменен на остаток глутамина, а аминокислотный остаток лизина в положении 24 заменен на остаток треонина. Введением двух мутаций K24T, V23Q в N-концевую подвижную петлю исходной молекулы WAS, ограничивающую активный центр и содержащую два каталитически важных остатка, был получен фермент, устойчивый к действию трипсина [21]. Полученный мутантный фермент WASm практически полностью сохранил исходную аспарагиназную активность, имел большую устойчивость к трипсину, а его глутаминазная активность оказалась на порядок ниже исходной [21].

В [22] были установлены пространственные структуры мутантной формы *L*-аспарагиназы WASm в апо-форме и в комплексах с продуктами реакции – *L*-аспарагиновой и *L*-глутаминовой аминокислотами в кристаллах (пр. гр. $P2_1$). В настоящей работе проведено сравнение конформации молекулы апо-формы мутанта *L*-аспарагиназы WASm и упаковок молекул апо-фермента в двух кристаллических модификациях – новой (пр. гр. $P22_12_1$) и ранее установленной (пр. гр. $P2_1$) [22]).

Кристаллы ромбической формы содержат две субъединицы (димер) в независимой части ячейки в отличие от моноклинной модификации с четырьмя субъединицами (тетрамером) в независимой части ячейки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мутантная *L*-аспарагиназа WASm (V23Q, L24T) получена, как описано в [21]. Поиск условий кристаллизации проведен методом диффузии паров растворителя в висячей капле с использованием приготовленных растворов полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молекулярной массой 3350, 4000, 8000 различной концентрации в интервале 6–25% при значениях pH от 5.5 до 7.2. Пригодные для структурного исследования кристаллы апо-формы *L*-аспарагиназы WASm получили при температуре 295 К. К 2 мкл раствора белка (концентрация 12 мг/мл) в фосфатном буфере концентрацией 0.01 М, pH 7.2, на силиконированной стеклянной пластинке добавляли равный объем резервуарного раствора, содержащего 8%-ный ПЭГ 3350 в фосфатном буфере концентрацией 0.1 М, pH 7.2. Стеклянной пластинкой с каплей накрывали ячейку, содержащую 0.5 мл резервуарного раствора. В этих условиях выросли кристаллы, принадлежащие моноклинной ($a = 62.820$, $b = 109.170$, $c = 87.700$ Å, $\beta = 95.50^\circ$, пр. гр. $P2_1$) и ромбической ($a = 60.619$, $b = 79.959$, $c = 108.469$ Å, пр. гр. $P22_12_1$) сингониям. Дифракционные наборы от ромбических кристаллов (пр. гр. $P22_12_1$) были получены, как описано в [23].

Структура кристаллов решена методом молекулярного замещения с использованием программы Phaser [24] и координат аспарагиназы (PDB_ID: 1WSA) в качестве стартовой модели. Для уточнения структуры использовали программу Refmac [25]. Ручную правку моделей проводили при помощи программы Coot [26], используя карты электронной плотности, рассчитанные с коэффициентами $2|F_o| - |F_c|$ и $|F_o| - |F_c|$. Независимая часть кристаллической ячейки содержит две субъединицы молекулы аспарагиназы, биологически активной формой которой является гомотетрамер. На картах электронной плотности не были локализованы аминокислотные остатки 1, 2, 18/A–27/A, 17/B–29/B, 289/B. Статистические характеристики уточнения приведены в табл. 1. Координаты атомной модели депонированы в Международный банк белковых данных (PDB_ID: 6SYH).

Анализ и сравнение пространственных структур апо-фермента разных модификаций проводили с использованием программ COOT [26], LSQ из пакета CCP4 [27], PISA, PyMol [28, 29]. Межмолекулярные и межсубъединичные контак-

ты были определены с использованием программы CONTACT комплекса CCP4 и PISA [27, 28].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Биологически активной формой аспарагиназы является гомотетрамер, состоящий из двух димеров. Каждый димер содержит два активных центра, в формировании которых участвуют обе субъединицы димера. Независимая часть ячейки ромбических кристаллов (пр. гр. $P22_1$) содержит один из димеров тетрамерной молекулы фермента, а моноклинных кристаллов (пр. гр. $P2_1$) — тетрамер.

Как и в других белках семейства аспарагиназ, на N-конце полипептидной цепи каждой субъединицы молекулы имеется консервативный участок TGGTIAG. N-концевые аминокислотные остатки (10–31 в WASm) образуют подвижную петлю, ограничивающую активный центр. В подвижной петле расположены два остатка, принимающие участие в катализе. В аспарагиназе *Wolinnella succinogenes* это Thr14 и Tyr27 [16]. Как и в большинстве пространственных структур L-аспарагиназ, не все аминокислотные остатки подвижной петли были выявлены на картах электронной плотности. В молекуле апо-формы WASm ромбических кристаллов, так же как и ранее в моноклинных, не были локализованы остатки Glu23 и Thr24, где проведены замены, а также каталитически важный остаток тирозина (Tyr27).

Чтобы изучить особенности упаковки молекул фермента в обеих кристаллических модификациях, были проанализированы строение тетрамерных молекул апо-формы аспарагиназы WASm, внутримолекулярные и межмолекулярные контакты в обеих кристаллографических группах. При совмещении пар субъединиц тетрамерной молекулы апо-формы (пр. гр. $P2_1$) по $\text{C}\alpha$ -атомам среднеквадратичное отклонение $\text{RMSD}_{\text{сред}}$ колеблется в пределах 0.091–0.120 Å, максимальное отклонение (до 1.295 Å) наблюдается только для остатков подвижных петель. Конформация аминокислотных остатков активных центров во всех четырех независимых субъединицах в структуре $P2_1$ одинакова.

При совмещении двух независимых субъединиц A и B апо-формы WASm ромбической модификации (пр. гр. $P22_1$) по $\text{C}\alpha$ -атомам $\text{RMSD}_{\text{сред}} = 0.301$ Å, максимальные отклонения (до 6.843 Å) наблюдаются для петли 266–294, один из аминокислотных остатков которой, Glu287, входит в активный центр субъединицы. В субъединицах A и B конформации петель 266–294 существенно различаются. При совмещении димеров AB молекул двух кристаллических модификаций (пр. гр. $P22_1$ и $P2_1$) по $\text{C}\alpha$ -атомам $\text{RMSD}_{\text{сред}}$ составляет 0.270 Å.

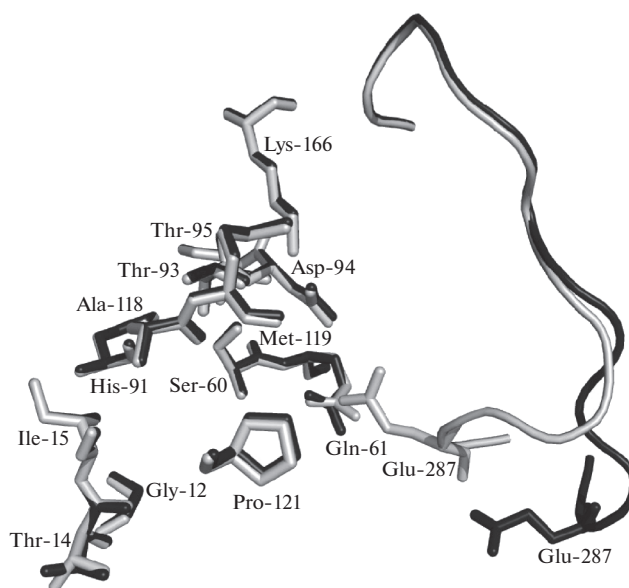


Рис. 1. Активные центры субъединиц A при совмещении димеров AB молекул мутантной аспарагиназы двух кристаллических модификаций: $P22_1$ (черный цвет), $P2_1$ (серый).

Максимальные значения RMSD (7.101 и 7.090 Å) наблюдаются для остатков Ala286 и Glu287 субъединиц B (Glu287 — один из остатков активного центра молекулы). Положения аминокислотных остатков Glu287 в субъединицах A обеих структур практически совпадают. Поскольку Glu287/A является одним из остатков, формирующих активный центр субъединицы B, строение активных центров субъединиц B в рассматриваемых структурах разных модификаций одинаковое. В субъединицах A молекул из разных структур строение активных центров различно, так как в активный центр субъединицы A входит остаток Glu287 субъединицы B из петли, положение которой в ромбической модификации существенно отличается от положения аналогичной петли субъединицы B в пр. гр. $P2_1$ (рис. 1).

Анализ полярных контактов молекул аспарагиназы в апо-формах обеих кристаллических модификаций показал, что внутримолекулярные полярные контакты практически эквивалентны в отличие от контактов межмолекулярных. Межмолекулярные полярные контакты в двух кристаллических модификациях представлены в табл. 2 и 3. На рис. 2а изображена независимая тетрамерная молекула кристаллической модификации $P2_1$ в окружении контактирующих с ней молекул; на рисунке выделены аминокислотные остатки, образующие полярные контакты с соседними молекулами в кристаллической ячейке. В модификации $P2_1$, когда в независимой части ячейки содержится тетрамерная молекула, все

Таблица 2. Межмолекулярные контакты (пр. гр. $P2_1$)

Контакты		Расстояние, Å
Молекула 1	Молекула 2	
x, y, z	$-x, y - 1/2, -z + 1$	2.92
OE2_Glu62/B	NZ_Lys66/C	2.71
O_Gly19/B	NZ_Lys241/C	3.31
OE1_Glu62/B	NZ_Lys66/C	2.84
NZ_Lys292/A	OE1_Glu62/C	3.55
OE1_Glu262/A	OG_Ser57/C	3.96
NZ_Lys292/A	OE2_Glu62/C	3.46
OE2_Glu321/A	NZ_Lys292/D	
x, y, z	$x, y - 1/2, -z$	2.54
NZ_Lys66/A	OE2_Glu62/D	
x, y, z	$x - 1, y, z$	2.72
NZ_Lys211/B	O_Lys316/A	
NZ_Lys316/B	OD2_Asp208/A	3.25
OD2_Asp208/B	NZ_Lys316/A	3.11
NZ_Lys82/D	O_Asp46/A	2.58
NZ_Lys143/D	O_Thr84/A	3.30
NZ_Lys143/D	O_Lys82/A	3.86
x, y, z	$-x - 1, y - 1/2, -z$	3.02
NZ_Lys266/B	O_Ala80/D	
x, y, z	$-x, y - 1/2, -z$	2.29
OE2_Glu62/A	NZ_Lys292/C	
OE1_Glu62/A	NZ_Lys292/C	2.87
NZ_Lys292/B	OE2_Glu321/C	3.33

субъединицы молекулы вовлечены в межмолекулярные контакты в разной степени (табл. 2). Площадь поверхности остатков тетрамерной молекулы, участвующих в межмолекулярных контактах, равна 2172.9 \AA^2 . Число остатков – 94, из них принимающих участие в образовании 18 полярных контактов – 28.

Тетрамерная молекула в кристалле пр. гр. $P22_1$, состоящая из двух димеров, связанных кристаллографической осью второго порядка, представлена на рис. 2б в окружении соседних димеров. Площадь поверхности остатков димера молекулы, участвующих в межмолекулярных контактах, равна 2182.3 \AA^2 . Число остатков – 87, из них при-

Таблица 3. Межмолекулярные полярные контакты (пр. гр. $P22_1$)

Контакты		Расстояние, Å
Молекула 1	Молекула 2	
x, y, z	$-x - 1, y - 1/2, -z + 1/2$	3.43
NH2_Arg74/A	O_Ala265/A	3.87
NH1_Arg74/A	O_Ala265/A	3.73
O_Gly30/A	OG1_Thr317/A	2.94
O_Gly30/A	N_Ser318/A	3.13
O_Gly30/A	OG_Ser318/A	3.48
O_Gly52/A	OG_Ser318/A	3.83
NZ_Lys70/A	OE2_Glu321/A	
x, y, z	$-x, y - 1/2, -z + 1/2$	3.62
N_Gly13/A	OE2_Glu213/B	3.21
NZ_Lys36/A	O_Thr315/B	2.84
O_Ser57/A	NZ_Lys73/B	3.53
OD1_Asn259/B	NZ_Lys70/B	3.38
OE1_Glu262/B	N_Ser57/B	3.66
NZ_Lys291/B	OE1_Glu262/A	3.55
OE1_Glu321/B	NZ_Lys292/A	
x, y, z	$x - 1, -y, -z + 1$	3.71
NZ_Lys82/A	OD1_Asn138/B	3.54
OD1_Asn138/A	NZ_Lys82/B	
x, y, z	$x - 1, y, z$	2.71
NZ_Lys211/A	OD1_Asp319/B	3.40
NZ_Lys211/A	OD2_Asp319/B	3.10
OD1_Asp319/A	NZ_Lys211/B	2.65
OD2_Asp319/A	NZ_Lys211/B	

нимающих участие в образовании 20 полярных контактов – 30. Так как молекула (тетрамер) в этой кристаллической модификации формируется с помощью кристаллографической оси второго порядка, площадь контактов и количество остатков удваиваются. Упаковка молекул в кристаллах пр. гр. $P22_1$ более компактная, чем в $P2_1$. Коэффициенты Метьюса [30] для структур соответственно равны 1.95 и $2.22 \text{ \AA}^3/\text{Да}$, что свидетельствует о большей доли растворителя в моноклинной структуре (44.53%), чем в ромбической (36.95%).

В обеих кристаллических формах можно отметить одни и те же аминокислотные остатки, участвующие в образовании полярных межмолеку-

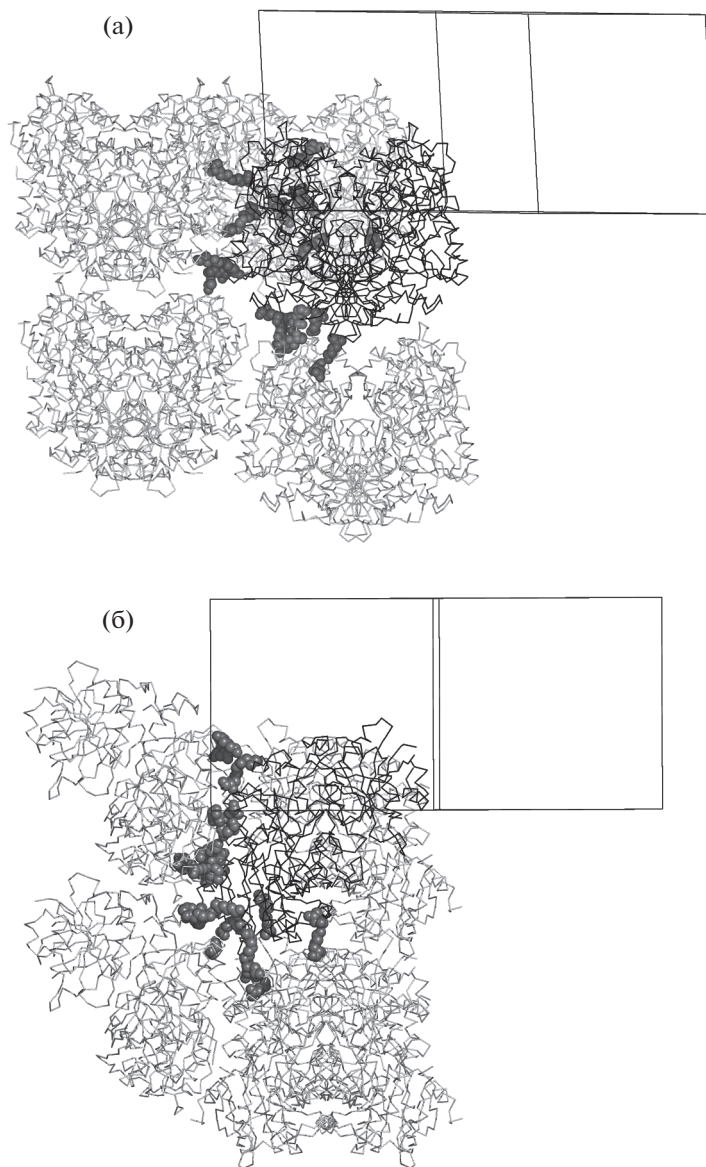


Рис. 2. Независимая тетрамерная молекула кристаллической модификации пр. гр. $P2_1$ в окружении контактирующих с ней молекул (а) и тетрамерная молекула кристаллической модификации пр. гр. $P22_12_1$ в окружении соседних димеров (б). Выделены аминокислотные остатки, образующие полярные контакты с соседними молекулами в кристаллической ячейке.

кулярных контактов (Ser57, Lys82, Lys211, Glu262, Lys292, Glu321). Но все эти остатки тетрамерных молекул в кристаллах разных модификаций образуют, как правило, полярные контакты не с одинаковыми аминокислотными остатками соседних молекул, связанных с исходными элементами симметрии. Так, если в модификации пр. гр. $P22_12_1$ можно отметить формирование пар полярных связей Lys82/A (x, y, z)–Asn138/B ($x - 1, -y, -z + 1$), Asn138/A (x, y, z)–Lys82/B ($x - 1, -y, -z + 1$) и Lys211/A (x, y, z)–Asp319/B ($x - 1, y, z$), Asp319/A (x, y, z)–Lys211/B ($x - 1, y, z$), то в пр. гр. $P2_1$

Lys82/D (x, y, z) контактирует с Asp46/A ($x - 1, y, z$) или Lys82/A ($x - 1, y, z$) – с Lys143/D (x, y, z). В обеих модификациях контакты между одинаковыми остатками образуются только в следующих случаях. Остаток Glu262 контактирует с Ser57 (OE1_Glu262/A (x, y, z)–OG_Ser57/C ($-x, y - 1/2, -z + 1$), пр. гр. $P2_1$), (OE1_Glu262/B (x, y, z)–N_Ser57/B ($-x, y - 1/2, -z + 1/2$), пр. гр. $P22_12_1$), а остаток Glu321 – с Lys292 (OE1_Glu321/B (x, y, z)–NZ_Lys292/A ($-x, y - 1/2, -z + 1/2$), пр. гр. $P22_12_1$), (OE2_Glu321/A (x, y, z)–NZ_Lys292/D ($-x, y - 1/2, -z + 1$), пр. гр. $P2_1$).

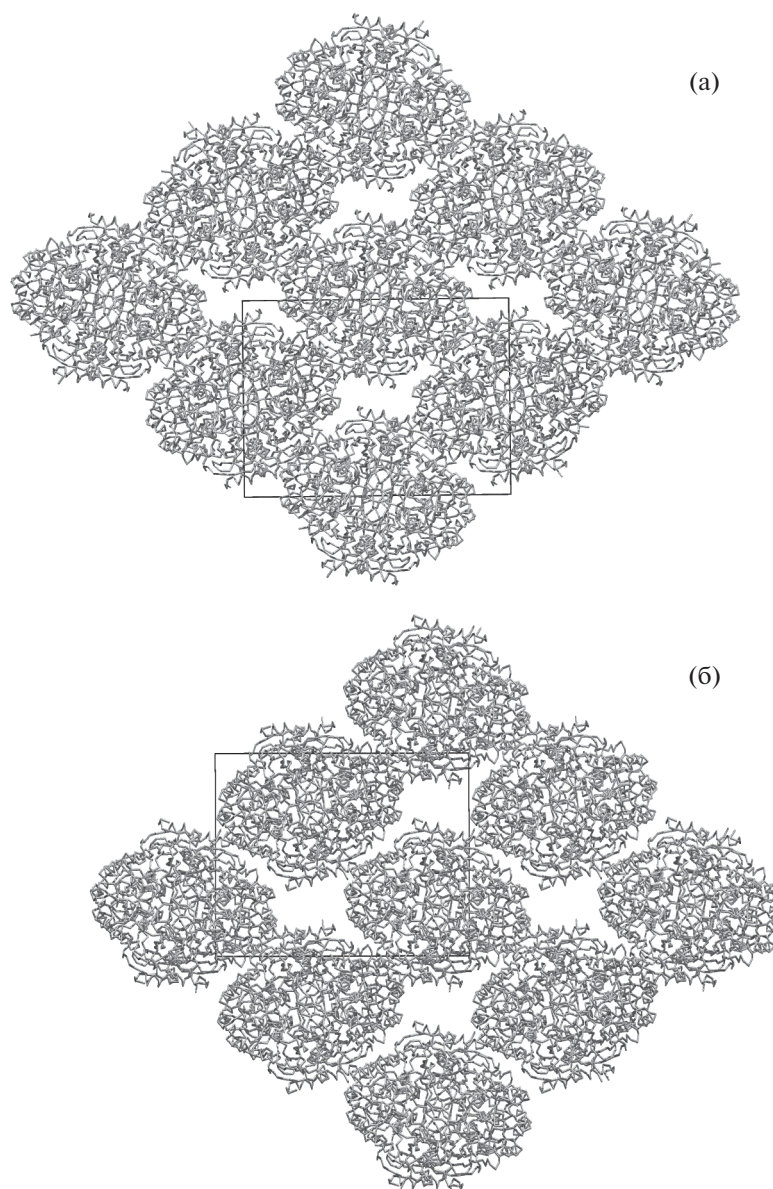


Рис. 3. Упаковки молекул WASm в двух кристаллических модификациях: а – пр. гр. $P22_12_1$, б – пр. гр. $P2_1$.

На рис. 3 представлены упаковки молекул в обеих кристаллических модификациях. В кристаллах $P22_12_1$, в которых ось симметрии второго порядка тетрамерной молекулы совпадает с кристаллографической осью симметрии 2, молекулы фермента образуют сплошные каналы вдоль оси a кристаллической ячейки, т.е. вдоль оси симметрии второго порядка кристалла (рис. 3а). Поверхность канала формируется спиралями 32–40, 42–48 и петлями 54–59 субъединиц молекул, связанных осью симметрии 2, а также спиралями 229–238, 255–267 субъединиц молекул, полученных в результате преобразований симметрии с помощью винтовых осей 2_1 , расположенных вдоль

осей b и c кристаллической ячейки. Размеры полости канала оценены по расстояниям между $C\alpha$ -атомами остатков, расположенных на поверхности канала и связанных осью симметрии 2. Поперечное сечение канала имеет вытянутую форму, наименьшее расстояние (10.18 Å) наблюдается между атомами $C\alpha$ остатков Ala39 (x, y, z) и Val32 ($x, -y + 1, -z + 1$), а между более удаленными областями канала, связанными осью 2, наименьшее расстояние 38.37 Å – между остатками Gly249. На рис. 4а представлены четыре молекулы и их активные центры, ближайшие к поверхности канала (пр. гр. $P22_12_1$). Активные центры молекул расположены на поверхности каналов и в основном

доступны для молекул растворителя. Однако в молекулах, связанных преобразованием симметрии $-x, y - 1/2, -z + 1/2$, два остатка активного центра Gln61/A (x, y, z) и Glu287/A ($-x, y - 1/2, -z + 1/2$) принимают участие в межмолекулярных контактах. Эти остатки в другой кристаллической форме (пр. гр. $P2_1$) образуют межсубъединичные полярные связи в димерах молекулы.

В кристаллах моноклинной модификации (пр. гр. $P2_1$) можно выделить каналы, которые образуют молекулы, связанные кристаллографической осью симметрии 2_1 , направленной вдоль оси b , и трансляциями вдоль осей b и c кристаллической ячейки кристалла (рис. 3б). Поверхность канала формируется спиралями 31–40, 42–47 субъединиц A и D молекулы (x, y, z), спиралями 31–40, 42–47 субъединиц C и B молекулы, полученной преобразованием ($x, y, z - 1$), спиралями 229–238 и 255–267 субъединицы A молекулы ($-x, y + 1/2, -z$, кристаллографическая ось 2_1), спиралями 229–238 и 255–267 субъединицы C молекулы ($-x, y - 1/2, -z$). Каналы в кристаллических решетках обеих модификаций сходны по форме. В модификации пр. гр. $P2_1$ наименьшее расстояние (17.62 Å) фиксируется между атомами $C\alpha$ остатков Ala39 субъединиц A и C , расположенных на расстоянии трансляции вдоль оси c ; для удаленных областей канала наименьшее расстояние 34.32 Å – между остатками Lys241 субъединиц A и C молекул, формирующих полость канала и находящихся на расстоянии трансляции вдоль оси b . Таким образом, в кристаллах пр. гр. $P2_1$ канал имеет больший размер, чем в кристаллах пр. гр. $P22_12_1$.

На рис. 4б представлены молекулы фермента, образующие канал, и ближайшие к поверхности канала активные центры. Анализ внутримолекулярных и межмолекулярных взаимодействий с помощью программы PISA показал, что активные центры молекул в обеих кристаллических модификациях доступны для растворителя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотрены упаковки молекул и описаны межмолекулярные контакты в двух кристаллических модификациях мутанта *L-аспарагиназы Wolinella succinogenes* (WASm). Площадь поверхности остатков тетрамерной молекулы, участвующих в межмолекулярных контактах, равна 2172.9 Å² в моноклинных кристаллах и 4364.6 Å² – в ромбических. Число полярных взаимодействий в ромбической форме кристаллов значительно больше, чем в моноклинной. Обе формы различаются по содержанию воды; доля растворителя в моноклинной структуре 44.53%, в ромбической 36.95% (коэффициенты Метьюса [30] для структур соот-

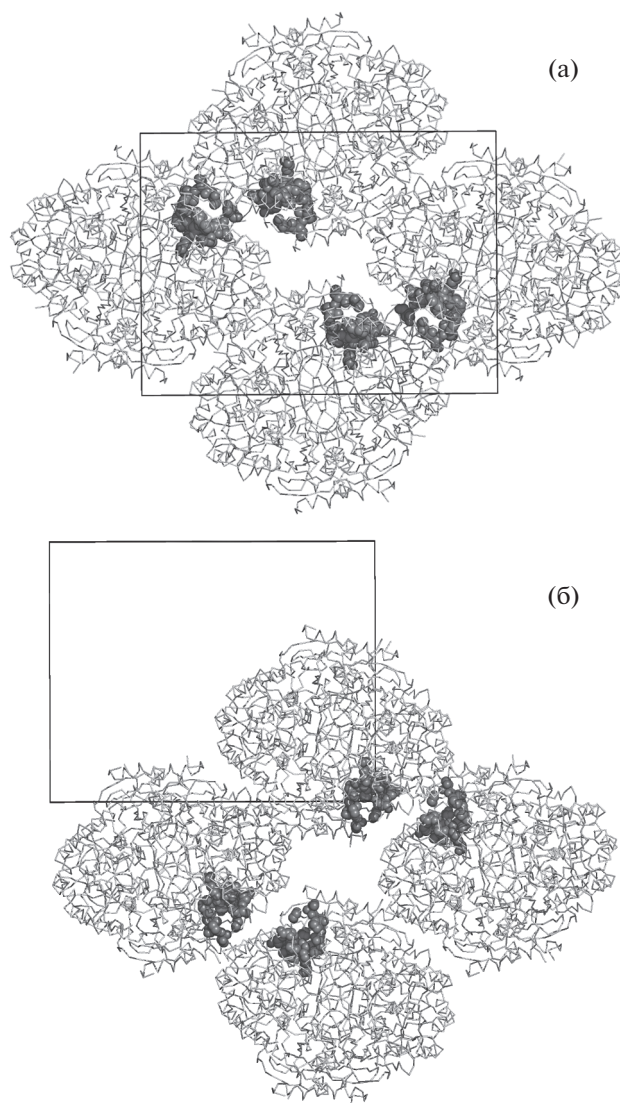


Рис. 4. Четыре молекулы фермента и их активные центры, ближайшие к поверхности канала: а – пр. гр. $P22_12_1$, б – пр. гр. $P2_1$.

ветственно равны 1.95 и 2.22 Å³/Да). Таким образом, упаковка ромбической формы более плотная. В обеих кристаллических решетках описаны заполненные растворителем каналы. Показано, что аминокислотные остатки активных центров молекул в обеих модификациях доступны для растворителя.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Howard J.B., Carpenter F.J. // J. Biol. Chem. 1972. V. 217. P. 1020.

2. *Lubkowski J., Wlodawer A., Ammon H.L. et al.* // Biochemistry. 1994. V. 33. P. 10257.
3. *Lubkowski J., Wlodawer A., Housset D. et al.* // Acta Cryst. D. 1994. V. 50. P. 826.
4. *Broom J.D.* // J. Exp. Med. 1968. V. 127. P. 1055.
5. *Rohm K.H., Van Etten R.L.* // Arch. Biochem. Biophys. 1986. V. 244. P. 128.
6. *Parmentier J.H., Maggi M., Tarasco E. et al.* // Leuk. Res. 2015. V. 39. P. 757.
7. *Warrell R.P., Chou T.C., Gordon C. et al.* // Cancer Res. 1980. V. 40. P. 4546.
8. *Patel N., Krishnan S., Offman M.N. et al.* // J. Din. Invest. 2009. V. 119. P. 1964.
9. *Kotzia G.A., Lappa K., Labrou N.E.* // Biochem J. 2007. V. 404. P. 337.
10. *Offman M.N., Krol M., Patel N. et al.* // Blood. 2011. V. 117. P. 1614.
11. *Distasio J.A., Niederman R.A.* // J. Biol. Chem. 1976. V. 251. P. 6929.
12. *Distasio J.A., Niederman R.A., Kafkewitz D.* // Exp. Biol. Med. 1977. V. 155. P. 528.
13. *Distasio J.A., Salazar A.M., Nadji M., Durden D.L.* // Znt. J. Cancer. 1982. V. 30. P. 343.
14. *Lubkowski J., Palm G.J., Gilliland G.L. et al.* // Eur. J. Biochem. 1996. V. 241. P. 201.
15. *Reinert R.B., Oberle L.M., Wek S.A. et al.* // J. Biol. Chem. 2006. V. 281. P. 31222.
16. *Durden D.L., Distasio J.A.* // Cancer Res. 1980. V. 40. P. 1125.
17. *Durden D.L., Distasio J.A.* // International J. Cancer. 1981. V. 27. P. 59.
18. *van den Berg H.* // Leukemia and Lymphoma. 2011. V. 52. P. 168.
19. *Covini D., Tardito S., Bussolati O. et al.* // Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery. 2012. V. 7. P. 4.
20. *Shrivastava A., Khan A.A., Khurshid M. et al.* // Critical Reviews in Oncology/Hematology. 2015. V. 100. P. 1.
21. *Sannikova E.P., Bulushova N.V., Cheperegin S.E. et al.* // Mol. Biotechnol. 2016. V. 58. P. 528. <https://doi.org/10.1007/s12033-016-9950-1>
22. *Тимофеев В.И., Жухлистова Н.Е., Куранова И.П.* // Биоорган. химия. 2020. Т. 46. С. 140.
23. *Тимофеев В.И., Булушова Н.В., Жухлистова Н.Е., Куранова И.П.* // Кристаллография. 2019. Т. 64. № 6. С. 902.
24. *McCoy A.J., Grosse-Kunstleve R.W., Adams P.D. et al.* // J. Appl. Cryst. 2007. V. 40. P. 658.
25. *Murshudov G.N., Vagin A.A., Dodson E.J.* // Acta Cryst. D. 1997. V. 53. P. 240.
26. *Emsley P., Cowtan K.* // Acta Cryst. D. 2004. V. 60. P. 2126.
27. Collaborative Computational Project, № 4. "The CCP4 Suite: Programs for Protein Crystallography" // Acta Cryst. D. 1994. V. 50. P. 760.
28. *Krissinel E., Henrick K.* // J. Mol. Biol. 2007. V. 372. P. 774.
29. *Schrödinger L.L.C.* The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8. 2015.
30. *Matthews B.W.* // J. Mol. Biol. 1968. V. 33. P. 491.