

Ж. И. АКОПЯН, М. Г. ГАЗАРЯНЦ

ПОЛИФЕРМЕНТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ. II

В работе приводятся литературные данные о полиферментных системах, участвующих в биосинтезе ароматических аминокислот. Обсуждаются также некоторые морфологические аспекты этого вопроса.

Г. Полиферментные системы в биосинтезе ароматических аминокислот. Тирозин, фенилаланин и триптофан продуцируются различными бактериями и грибами. Синтез ароматических аминокислот осуществляется сложным механизмом, через репрессию синтеза ферментов и ингибирование по типу обратной связи или конечным продуктом, или каким-либо промежуточным продуктом реакции. Подобная последовательность реакций обнаружена во всех организмах, хотя пути регуляции этих реакций у них различны. У видов внутри данного рода пути биосинтеза, вероятно, контролируются одинаково, в отличие от разных родов, где происходит полная дифференциация механизмов регуляции тока метаболитов в общем пути и в его ответвлениях, ведущих к образованию трех аминокислот [32, 42, 43]. Синтез ароматических аминокислот осуществляется согласно последовательности реакций, изображенных на схеме.

Некоторые ферменты, участвующие в биосинтезе ароматических аминокислот, были выделены в виде устойчивых полиферментных систем и их характеристики менее однотипны, чем формы метаболического контроля; ферментативные пути могут быть организованы совершенно различно даже в близко родственных видах. Можно допустить различные объяснения присутствия агрегатов в ряде случаев, однако функциональное значение нескольких комплексов все еще обсуждается [20—45].

Гилес с сотр. [20] выделили полиферментный комплекс из *Neurospora crassa*, которая содержит полную последовательность ферментов, катализирующих превращение 3-гидрокси-арабино-гептулозо-7-фосфат в 3-энолпирувилшикимо-5-фосфат. Структурные гены, которые кодируют все пять ферментов биосинтеза ароматических аминокислот, имеют ряд признаков, общих с бактериальными оперонами [7]. Измерение молекулярного веса выделенного комплекса методом седиментационного равновесия показало, что он равен 230000. Это значение находится в соответствии с данными, полученными методом центрифугирования в градиенте плотности сахарозы и сефарозной хроматографии [5]. Изучение структуры субъединиц комплекса не завершено и в настоящее время является объектом пристального внимания энзимологов.

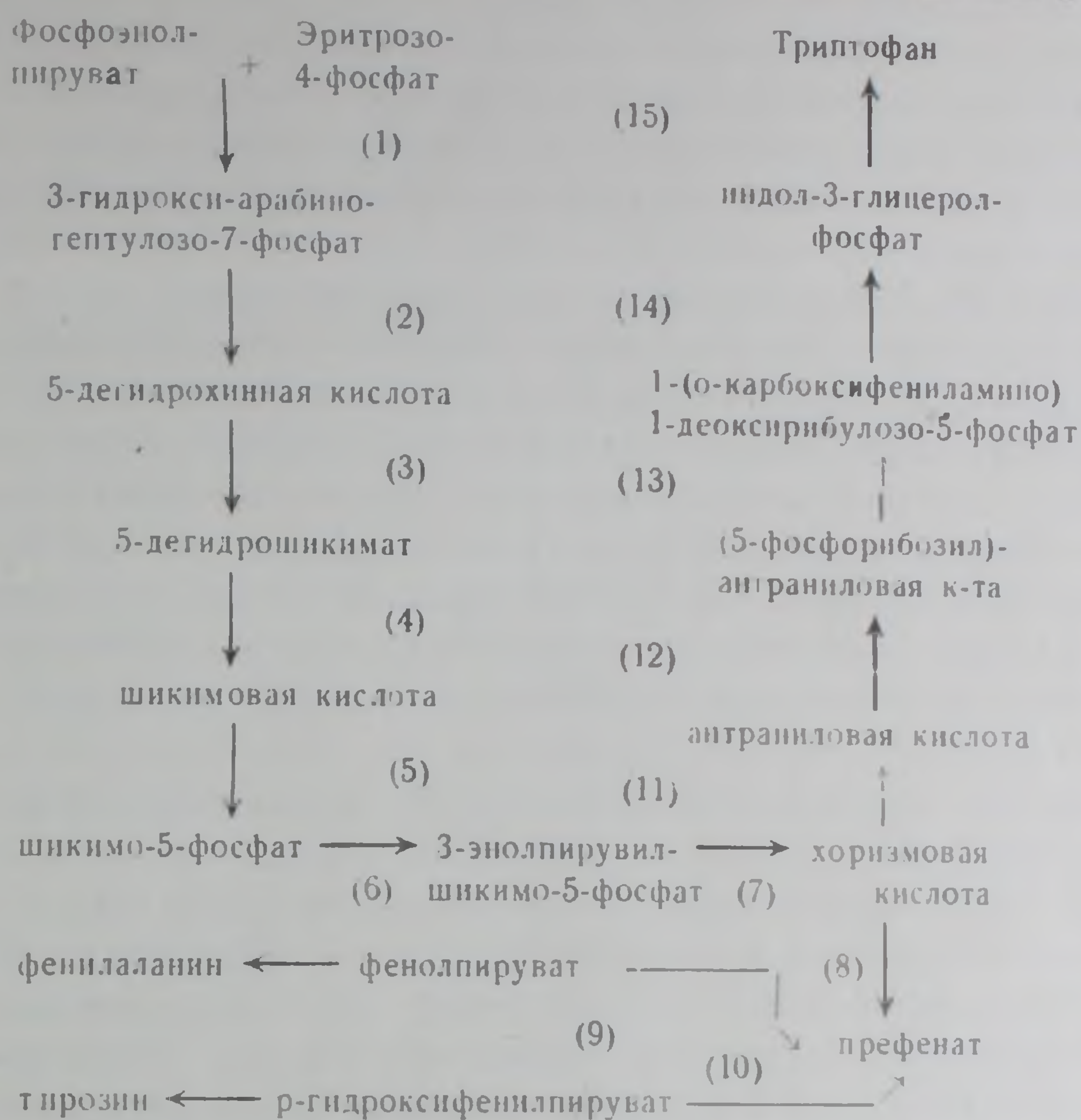
Гилес и сотр. [20] допускают, что полиферментный комплекс обра-

зовался в ответ на появление метаболической проблемы. Они обнаружили, что *Neurospora* способна продуцировать не только конститутивную, но и индуцибельную дегидрогеназу, которая является компонентом биосинтетического комплекса. Индуцибельный фермент несет, по-видимому, катаболическую функцию, однако он может конкурировать с конститутивным ферментом за субстрат. Гилес и сотр. предположили, что так как конститутивная дегидрогеназа является компонентом мультиферментного комплекса, она может эффективно конкурировать за дегидрохинную кислоту, которая образуется из 3-гидрокси-арабино-гептулозо-7-фосфата [21, 40]. Положение о возможности отделения конкурирующих метаболических путей посредством объединения ферментов ранее считалось спекулятивным [39], но комплекс ароматических ферментов из *Neurospora* явился первым документированным примером такой функции мультиферментного комплекса.

Пять ферментов, вовлеченных в превращение 3-гидрокси-арабино-гептулозо-7-фосфата в 3-энолпирувилшикимо-5-фосфат, по-видимому, встречаются как мультиферментный комплекс не только в *Neurospora*, но также в ряде других грибов [1]. Аймд и Гилес [1] недавно изучили шесть видов грибов, и в каждом из них пять ферментов не были разделены фракционированием сульфатом аммония и центрифугированием в градиенте плотности. Они также упоминали неопубликованную работу, в которой предполагалось наличие сходного комплекса у *Saccharomyces cerevisiae*. Кажущиеся коэффициенты седиментации агрегатов близки к 11S; это указывает на то, что они сходны в размерах с комплексом *Neurospora*. Аймд и Гилес сообщили, что дегидрогеназа была обнаружена у двух из шести исследованных грибов. Ни одна дегидрогеназа не была обнаружена в четырех других исследованных видах грибов вне комплекса.

В отличие от ферментов, обнаруженных в грибах, ферменты, катализирующие реакции 2—6 (схема) в прехоризматическом отрезке пути биосинтеза ароматических аминокислот бактерий, по-видимому, не связаны друг с другом. Гилес и сотр. изучили шесть бактериальных видов, принадлежащих к разным родам [4]. Ферменты, которые катализируют реакции 2—6 в биосинтетической последовательности (схема), четко разделены центрифугированием в градиенте плотности сахарозы. Кроме того, вычисленный молекулярный вес активных видов был близок для всех к значениям порядка 80000. Биохимические и генетические данные предполагают наличие только одной дегидрогеназы в каждом из шести видов бактерий.

Пять ферментов синтеза ароматических аминокислот входят в комплекс в грибах, но не образуют его в бактериях. Нестер и сотр. [36] обнаружили, что два, а возможно и три других фермента этого пути, по-видимому, ассоциируют друг с другом, по крайней мере в одном бактериальном виде, *Bacillus subtilis* [36]. Два из вовлеченных ферментов—3-гидрокси-арабино-гептулозо-7-фосфатсинтетаза и хоризматмутаза (ферменты 1 и 8, схема), эти две активности не разделяются методами



С х е м а. Биосинтез ароматических аминокислот. Показана (см. текст) физическая ассоциация ферментов, катализирующих следующие реакции: 2—6; 1+8+5 (?) 8+9; 8+10; 11+12; 11+14; 11+13+14; 13+14; 15.

центрифугирования в градиенте плотности сахарозы, хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе, ТЕАЕ-целлюлозе, гидроксилпатите и сефадексе G-100. Молекулярный вес комплекса был определен проникающей гелевой хроматографией и оказался равным 138000. Две фракции с шикиматкиназной активностью (реакция 5, схема) были элюированы хроматографированием экстракта *B. subtilis* на ДЕАЕ-целлюлозе. Одна из этих фракций была ассоциирована с комплексом 3-гидрокси-арабино-гептулозо-7-фосфатсинтетазахоризматмутаза, и эти фракции шикиматкиназной активности продолжали продвигаться с комплексом во время последующей хроматографии на сефадексе G-100. Не было обнаружено высокомолекулярной фракции с шикиматкиназной активностью в экстрактах из *B. subtilis* [4]. Очевидно, полная шикиматкиназная активность в экстрактах была относительно низка; допускается, что особый штамм *B. subtilis* может отличаться изоэнзимом шикиматкиназы, присутствующей в штамме, используемом Нестером и др.

Функция комплекса *B. subtilis* спорна. Реакции, катализируемые этими тремя рассмотренными ферментами, не следуют непосредственно одна за другой вдоль метаболического пути [37]. Нестер и сотр. обнаружили, что эти три фермента имеют общность в сродстве к хоризмату и префенату; эти два метаболита представляют собой субстрат и про-

дукт хоризматмутаза и осуществляют контроль по принципу обратной связи над 3-гидроксид-арабино-гептулозо-7-фосфатсинтетазой и шикиматкиназой. Авторы предполагают, что этот комплекс может осуществлять более эффективный контроль над входом в метаболический путь, ведущий к синтезу ароматических кислот, чем структурно независимые ферменты [12]. В *Staphylococcus epidermidis* обнаружен тот же тип регуляции по принципу обратной связи; Нестер и сотр. сообщили, что хоризматмутаза и 3-гидроксид-арабино-гептулозо-7-фосфатсинтетаза из других организмов элюируются вместе из ДЕАЕ-целлюлозы и обнаруживаются в одних и тех же фракциях после центрифугирования в градиенте плотности [12]. С другой стороны, 3-гидроксид-арабино-гептулозо-7-фосфатсинтетаза, шикиматкиназа и хоризматмутаза легко отделяются в экстрактах из *B. licheniformis* из организма, в котором регуляция синтеза ароматической аминокислоты напоминает регуляцию у *B. subtilis* [14].

Во многих микроорганизмах активность хоризматмутаза регулируется как фенилаланином, так и тирозином. В *E. coli* и *Aerobacter aerogenes* имеются два изофермента хоризматмутаза, один из них ингибируется только фенилаланином, а другой — только тирозином. Более того, в обоих видах фенилаланин-чувствительная хоризматмутаза ассоциирована с префенатдегидратазой (фермент 9, схема), в то время как тирозин-чувствительный изофермент связан с префенатдегидрогеназой [15—17]. Это распределение очень хорошо согласуется с ситуацией, согласно которой организм имеет адекватный пул либо тирозина, либо фенилаланина, но не обоих вместе. Во-первых, префенат должен продуцироваться в меньших количествах, чем если бы обе аминокислоты были необходимы. Более важно, что уменьшающиеся количества продуцирующегося префената будут управляться преимущественно в соответствующем направлении. Если первые ферменты, находящиеся вне точки ответвления (схема), не ассоциированы с соответствующими изоферментами хоризматмутаза, они будут находиться под прямым контролем по принципу обратной связи соответствующими конечными продуктами. В противном случае уменьшенный запас префената будет произвольно превращаться в обе необходимые и в не необходимую аминокислоты [33].

Триптофановая ветвь метаболического пути ароматических аминокислот была очень детально изучена у широкого спектра микроорганизмов.

Антранилатсинтетаза, которая катализирует реакцию 11 (схема), наиболее часто участвует в формировании комплекса. Это имеет место в комбинации с другим ферментом биосинтетического пути у большинства грибов и у некоторых бактерий [28]. В *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* и *A. aerogenes* антранилатсинтетаза тесно связана с фосфорибозилтрансферазой, которая катализирует реакцию 12 (схема). Достаточно детально изучен и описан комплекс у *E. coli* [29—31]. Ре-

результаты очень сходны с результатами, полученными Бауерлом и Марголином у *S. typhimurium* [3], и Эганом и Гибсоном—у *A. aerogenes* [17]. Два фермента не могут быть легко отделены, однако их можно выделить отдельно из мутантных штаммов, потерявших либо один, либо другой компонент [3, 30, 41]. Если два компонента смешиваются, то они спонтанно ассоциируют и образуют комплекс, идентичный комплексу, обнаруживаемому в диком штамме. Это «поведение», по-видимому, было использовано при изолировании комплекса [41]. Антранилатсинтетазный компонент, выделенный из мутантов *E. coli* [30] и *S. typhimurium*, имел [48], молекулярный вес, равный 60000. Как было сообщено, частично очищенный комплекс из *E. coli* имел коэффициент седиментации 10.7S [2], в то время как аналогичный комплекс из *S. typhimurium*—13S и молекулярный вес, равный 290000 [41]. Свойства антранилатсинтетазы изменяются некоторым образом при ассоциировании с фосфорибозилтрансферазой. Как свободный компонент, так и комплекс могут использовать ионы аммония в реакции 11 (схема), однако комплекс может использовать глутамин [31, 48]. Активирующее влияние комплекса на глутаминовую реакцию можно наблюдать в экстрактах из мутантов, не продуцирующих активную фосфорибозилтрансферазу, но продуцирующих белок, который перекрестно реагирует на антитела для трансферазы. Хотя и антранилатсинтетаза, и ее комплекс с трансферазой превращают хоризмат в антранилат в присутствии ионов аммония, сродство комплекса к хоризмату значительно больше, чем сродство свободного фермента. Антранилатсинтетаза несколько более чувствительна к ингибированию триптофаном в случае, когда присутствуют другие компоненты комплекса. Наконец, тепловая стабильность антранилатсинтетазы значительно повышается, когда она комбинируется с фосфорибозилтрансферазой [31]. Трансфераза также более стабильна в комплексе, чем когда она одна. С другой стороны, свойства трансферазы не изменяются радикально при формировании комплекса; ни субстратная специфичность, ни каталитическая эффективность фермента не изменяются. Однако активность комплекса в реакции 12 (схема) может быть частично ингибирована триптофаном; трансфераза же чувствительна к триптофану в отсутствие антранилатсинтетазы [31].

Комплекс, обнаруженный в *E. coli* и *S. typhimurium*, не является общим для всех бактерий. Имеющиеся единичные данные позволяют допустить, что ферменты триптофановой ветви во многих бактериях не образуют каких-либо комплексов. Пять ферментов из экстрактов *Pseudomonas putida* [18], *Chromobacterium violaceum* [44] и *B. subtilis* [26] можно четко разделить путем гелевой фильтрации или центрифугированием в градиенте плотности сахарозы. Три из пяти ферментов из *Serratia marcescens* обнаружены вместе после центрифугирования в градиенте плотности; однако кажущийся коэффициент седиментации зоны, в которой обнаруживается активность, очень низкий. По всей вероятности, комплекса как такового нет, и обнаружение трех ферментов в одной и

той же фракции— артефакт [27]. Превращение N-(5'-фосфорибозил) антранилата в индол-3-глицерфосфат (реакции 13 и 14, схема) в *E. coli* катализируется одним ферментом. Поскольку этот фермент состоит, по-видимому, из одной полипептидной цепи, он не представляет собой мультиферментный комплекс [14]. Сходный бифункциональный фермент обнаружен у *N. crassa*, но здесь он ассоциирован с антранилатсинтетазой [16]. Гартнер и Де Мосс недавно очистили этот ферментный комплекс [19]. Наиболее интересным оказалось то, что этот фермент катализирует три реакции (реакции 11, 12, 13; схема), которые не укладываются в последовательности метаболического пути; фосфорибозилтрансфераза отсутствует. Комплекс имеет молекулярный вес, равный 240000 и состоит из шести полипептидных цепей, по крайней мере двух различных типов. Его можно частично диссоциировать осторожной обработкой р-меркурибензоатом. Диссоциация комплекса этим методом оставляет фосфорибозилантранилат изомеразную (фермент 13, схема) и индолглицерофосфатсинтетазную (фермент 14, схема) активности интактными, но разрушает активность антранилатсинтетазы.

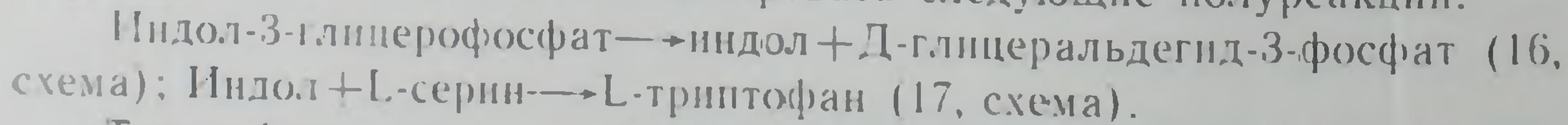
Изучался агрегационный характер ферментов биосинтеза триптофана у значительного количества грибов [28]. Картина, обнаруженная в *Neurospora*, является наиболее общей, в ряде случаев антранилатсинтетаза диссоциирует из комплекса, если не присутствуют глутамин и EDTA.

В *S. cerevisiae* фосфорибозилантранилат изомеразная и индолглицерофосфатсинтетазная активности осуществляются двумя различными белками, которые легко разделяются [15, 28]. Индолглицерофосфатсинтетаза, однако, ассоциирована с антранилатсинтетазой. Различие в ситуации у дрожжей и у *Neurospora* заключается в том, что дрожжевой комплекс теряет третий фермент триптофанового пути, также, как и второй.

Триптофансинтетаза катализирует следующую реакцию триптофанового пути:



Фермент способен также катализировать следующие полуреакции:



Триптофансинтетаза из *E. coli* содержит полипептидные цепи двух различных типов, которые относятся к А-белку и В-белку (или α - и β -субъединицам) [12, 47].

Состав полного фермента— A_2B_2 , и при растворении фермент частично диссоциирует: $A_2B_2 = 2A + B_2$ [13]. Молекулярный вес А-мономера равен 29.000 [39], В-димера—100.000 [40—42]. Эти два типа легко разделяются и каждый из них каталитически активен: А-белок в реакции 16 (схема) и В-белок в реакции 17 (схема). Каталитическая активность отдельных компонентов намного меньше, чем соответствующие активности целого белка, однако ни один компонент не обладает какой-либо

активностью в общей реакции 15 (схема) [10]. На первый взгляд кажется, что реакция представляет собой простую сумму полуреакций, неэффективно катализируемых А- и В-белками. Однако свободный индол не является промежуточным продуктом в полной реакции и уровень реакции 16 (схема) значительно ниже уровня полной реакции. Поэтому допускается, что конверсия индол-3-глицерофосфата и серина в триптофан представляет собой синхронную реакцию, в которой участвуют как А-, так и В-белки [47]. Наиболее очевидным эффектом ассоциации этих двух компонентов является следующее: значительное возрастание активностей, обнаруженных в разделенных компонентах; появление активности, отсутствующей у обоих отдельных компонентов. Характерная активность В-белка может быть значительно стимулирована не только нормальным А-белком, но также и иммунологическим материалом, выделенным из мутантов, не способных продуцировать каталитически активный А-белок [46]. Активность В-белка в реакции 17 (схема), приближающаяся к активности A_2V_2 -агрегата, может быть стимулирована очень высокими концентрациями ионов аммония [23]. В-белок содержит один пиридоксальфосфат в простетической группе полипептидной цепи [45], поэтому не удивительно обнаружение того факта, что изолированный В-белок способен катализировать дезаминирование серина [11] и некоторые реакции другого типа, характерные для ферментов, содержащих пиридоксальфосфат [34]. Удивительно то, что ассоциация белка А с белком В ингибирует сериндезаминазную активность почти полностью [11]. Формирование комплекса, по-видимому, не только стимулирует активность тех компонентов, которые вовлекались в их функционирование, но и супрессирует побочные реакции. Белки, в общем сходные с триптофансинтетазой *E. coli* и катализирующие те же реакции, обнаружены у большого числа микроорганизмов [28]. Сродство белков, катализирующих реакции 16 и 17 (схема), друг к другу, по-видимому, варьирует от организма к организму. Комплекс A_2V_2 из *E. coli* относительно стабилен в присутствии пиридоксальфосфата и серина. В разбавленном растворе фермента, при отсутствии этих метаболитов, субъединицы по-прежнему обладают сродством друг к другу, однако во время центрифугирования в градиенте плотности сахарозы или на крахмальном геле комплекс заметно диссоциирует [12, 13, 22]. Структура субъединиц триптофансинтетазы из *N. crassa*, возможно, сходна с таковой из *E. coli*. Однако полипептидные цепи фермента из плесней намного крепче прикреплены друг к другу, чем у триптофансинтетазы *E. coli*. Обнаружено, что фермент из *N. crassa* диссоциирует только в концентрированном гуанидинхлориде [6]. Не были обнаружены активные субъединицы, и до сих пор неизвестно, аналогичны ли в функциональном отношении субъединицы триптофансинтетазы из *Neurospora* с ферментом из *E. coli*.

Однозначно говорить о биологической значимости полиферментных систем в настоящее время не представляется возможным, ибо исследования в этой увлекательной области молекулярной энзимологии нахо-

дятся на самых ранних стадиях своего развития. Порой создается впечатление, что большинство этих комплексов было обнаружено и описано случайно, что в значительной степени предопределило сдержанное отношение к данным о каскаде ферментов, катализирующих ряд последовательных энзиматических реакций. Формирование полиферментных комплексов необходимо, очевидно, для резкого повышения эффективности метаболического пути, для предотвращения конкуренции за один и тот же метаболит и т. д. В настоящее время нет еще убедительных данных, объясняющих необходимость наличия полиферментных организаций для дрожжевых клеток, клеток органов птиц, млекопитающих, с одной стороны и для высших растений—с другой. Это обстоятельство усугубляется еще и тем, что реакции катализа полиферментных комплексов не всегда следуют прямо одна за другой вдоль метаболического пути. В полиферментных системах иногда наблюдаются и такие моменты, когда субстраты или продукты реакции зоны действия одного фермента могут оказаться эффекторами в другой реакции, катализируемой этим же полиферментным комплексом. Подобное поведение допускает предположение о том, что члены полиферментного комплекса могут играть двойную роль: как каталитические субъединицы для одной реакции и как регуляторные—для другой.

Совершенно очевидно, что дальнейшее детальное изучение полиферментных комплексов как в интактных клетках, так и в клетках с отклоненной функциональной способностью представляет большой общебиологический и прикладной интерес.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступило 28.VIII 1975 г.

Ժ. Ի. ՀԱՎՈՐՅԱՆ, Մ. Գ. ՂԱԶԱՐՅԱՆՑ

ՊՈԼԻՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ԿՈՄՊԼԵՔՍՆԵՐ. II

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հոդվածում բերված են գիտական տվյալներ արոմատիկ ամինաթթուների կենսասինթեզում պոլիֆերմենտային սխեմաների դերի և ֆիզիոլոգիական նշանակության մասին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ahmed S. I. and Giles N. H. J. Bacteriol. 99, 231, 1969.
2. Baker T. I. and Crawford I. P. JBC 241, 5577, 1966.
3. Baurle R. H. and Margolin P. Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol. 31, 203, 1966.
4. Berlyn M. B. and Giles N. H. J. Bacteriol. 99, 222, 1969.
5. Burgoyne L., Case M. E. and Giles N. H. BBA 191, 452, 1969.

6. *Carlotis M., Apella E., Provost P. J. germershausen and Suskind S. R.*, BBRC 18, 877, 1965.
7. *Case M. E. and Giles N. H.* Genetics 60, 49, 1968.
8. *Cotton R. G. H. and Gibson F.* BBA 100, 76, 1965.
9. *Cotton R. G. H. and Gibson F.* BBA 160, 188, 1968.
10. *Crawford I. P. and Yanofsky C.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 44, 1161, 1958.
11. *Crawford I. P. and Ito J.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 51, 390, 1964.
12. *Crawford I. P., Ito J. and Hatanaka M.* Ann N. Y. Acad. Sci. 151, 171, 1968.
13. *Creighton T. E. and Yanofsky C.* JBC 241, 980, 1966.
14. *Creighton T. E. and Yanofsky C.* JBC 241, 4616, 1966.
15. *DeMoss J. A.*, BBRC, 18, 850, 1965.
16. *DeMoss J. A., Wegman J.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 54, 241, 1965.
17. *Egan A. F. and Gibson F.* BBA 130, 276, 1966.
18. *Enatsu T. and Crawford I. P.* J. Bacteriol. 95, 107, 1968.
19. *Gaertner F. H. and DeMoss J. A.* JBC 244, 2716, 1969.
20. *Giles N. H., Case M. E., Partridge C. W. H. and Ahmed S. I.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 58, 1453, 1967.
21. *Giles N. H., Partridge C. W. H., Ahmed S. I. and Casa M. E.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 58, 1930, 1967.
22. *Goldberg M. E., Creighton T. E., Baldwin R. L. and Yanofsky C.* JMB 21, 71, 1966.
23. *Hatanaka M., White E. A., Horibata K. and Crawford T. P.* ABB 97, 596, 1962.
24. *Hathaway G. M., Kida S. and Crawford I. P.* Biochemistry 8, 989, 1969.
25. *Henning U., Chao F. C., Hellnski D. R. and Yanofsky C.* JBC 237, 1523, 1962.
26. *Hoch S. O., Anagnostopoulus C. and Crawford I. P.* BBRC 35, 838, 1969.
27. *Hutchinson M. A. and Belser W. L.* J. Bacteriol. 98, 109, 1969.
28. *Hüttep P. and DeMoss J. A.* J. Bacteriol. 94, 1896, 1967.
29. *Ito J. and Yanofsky C.* JBC, 241, 4112, 1966.
30. *Ito J., Cox E. C. and Yanofsky C.* J. Bacteriol. 97, 725, 1969.
31. *Ito J. and Yanofsky C.* J. Bacteriol. 97, 734, 1969.
32. *Jensen R. A., Nasser. D S. and Nester E. W.* J. Bacteriol. 94, 1582, 1967.
33. *Lue P. F. and Kaplan J. G.* BBRC 34, 426, 1969.
34. *Miles E. W., Hatanaka M. and Crawford I. P.* Biochemistry 7, 2742, 1968.
35. *Nasser D. S., Henderson G. and Nester E. W.* J. Bacteriol. 98, 44, 1969.
36. *Nester E. W., Lorence J. H. and Nasser D. S.* Biochemistry 6, 1553, 1967.
37. *Patte J. C., Truffa-Bachi P. and Cohen G. N.* BBA 128, 426, 1966.
38. *Pittard J. and Wallace B. J.* Bacteriol. 91, 1484, 1966.
39. *Reed L. J. and Cox D. J.* Ann. Rev. Biochem., 35, 57, 1966.
40. *Rines H. W., Case M. E. and Giles N. H.* Genetics 61, 789, 1969.
41. *Smith D. and Bauerle R. H.* Biochemistry 8, 1451, 1969.
42. *Tristram A.* Sci. Progr. (London) 56, 449, 1969.
43. *Truffa-Bachi P. and Cohen G. N.* Ann. Rev. Biochem. 37, 79, 1968.
44. *Vegman J. and Crawford I. P.* J. Bacteriol. 95, 2325, 1968.
45. *Wilson D. A. and Crawford I. P.* JBC 240, 4801, 1965.
46. *Yanofsky C.* Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 45, 1016, 1959.
47. *Yanofsky C.* Bacteriol. Rev. 24, 221, 1960.
48. *Zalkin H. and Kling D.* Biochemistry 7, 3566, 1968.