

# Supporting Information

Lechtenberg et al. 10.1073/pnas.1005255107

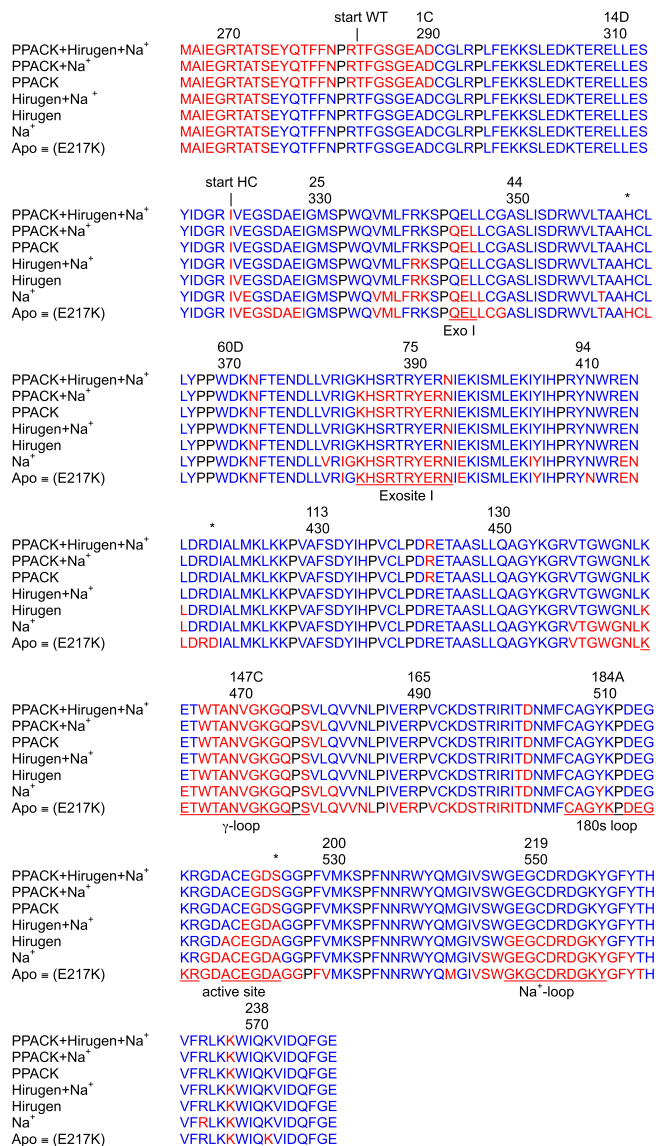
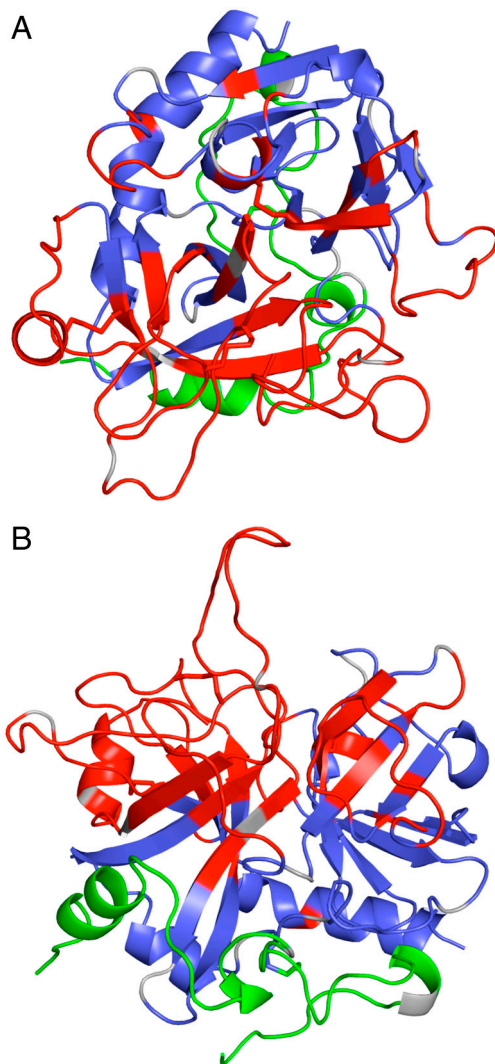


Fig. S1. "Sequence alignment" of the assignment status of the seven thrombin ligation states. Assigned residues are colored blue, unassigned residues are red, proline residues are black. Important regions are indicated. Chymotrypsin (upper) and prothrombin (lower) numbering schemes are given. The catalytic triad residues are indicated by an asterisk. Wild-type thrombin undergoes auto-cleavage in the light chain, so that it is 19 residues shorter than that of S195A thrombin (indicated).





**Fig. S3.** Role of light chain in stabilizing apo thrombin. Heavy chain of apo thrombin is colored according to assignment status (blue assigned, red unassigned, and grey for prolines), with the light chain in green, in (A) standard orientation, and (B) rotated to illustrate stabilizing effect of light chain.



**Table S2. Significant chemical shift differences ( $\geq 0.1$  ppm) for each deligation event**

Residue	$\Delta\delta$ , ppm
<b>A) Pk : Hn : Na<sup>+</sup> → Pk : Na<sup>+</sup></b>	
S27	0.129
W29	0.123
V31	0.435
M32	0.372
L33	0.954
F34	0.835
R35	1.732
K36	1.5
S36A	0.374
L41	0.537
C42	0.102
G43	0.127
A44	0.107
S45	0.225
R50	0.134
T54	0.162
E61	0.218
N62	0.35
L64	0.499
L65	0.18
V66	0.637
R67	0.627
I68	0.934
G69	0.245
I79	0.463
E80	0.415
K81	0.318
I82	0.559
S83	0.212
M84	0.14
L85	0.166
K87	0.133
I88	0.925
Y89	0.451
K109	0.14
Y117	0.117
V138	0.171
G140	0.377
W141	0.282
G142	0.171
T147	0.147
Q156	0.363
E192	0.136
G196	0.119
F199	0.161
I242	0.203
<b>B) Pk : Hn : Na<sup>+</sup> → Hn : Na<sup>+</sup></b>	
E18	0.158
G19	0.121
A22	0.11
W29	0.136
M32	0.166
L40	0.755
L41	0.34
C42	0.207
G43	0.435
A44	0.283
S45	0.155
I47	0.193
S48	0.824
D49	1.006
R50	0.624
W51	0.426
V52	0.128
L53	0.32
T54	0.263
A55	0.14
A56	0.121

Residue	$\Delta\delta$ , ppm
H57	0.26
C58	0.339
Y60A	0.112
D60E	0.205
K60F	0.217
F60H	0.127
E61	0.113
N62	0.106
R67	0.156
I68	0.21
G69	0.195
R73	0.107
E77	0.121
R77A	0.27
I79	0.396
E80	0.213
K81	0.565
I82	0.392
M84	0.209
K87	0.148
I88	0.411
Y89	0.11
I90	0.153
N95	0.101
W96	0.147
R97	0.14
E97A	0.102
N98	0.259
L99	0.576
D100	0.116
R101	0.318
D102	0.206
I103	0.321
L105	0.267
K107	0.252
K110	0.159
V112	0.15
A113	0.298
F114	0.14
S115	0.273
H119	0.152
C122	0.115
L123	1.024
D125	0.11
E127	0.203
T128	0.21
A129	0.352
S129B	0.252
L130	0.127
V138	0.138
T139	0.257
G140	0.101
W141	0.22
G142	0.485
N143	0.39
L144	0.244
K145	0.1
E146	0.219
T147	0.133
V157	0.199
V158	0.147
N159	0.102
K169	0.124
S171	0.111
I174	0.253
R175	0.171
I176	0.241
T177	0.275
M180	0.221
F181	0.245
C182	0.204
A183	0.31

Residue	$\Delta\delta$ , ppm
G184	0.403
Y184A	0.289
G188	0.163
D189	0.319
A190	0.367
C191	1.577
G196	1.052
G197	0.659
F199	0.23
V200	0.328
M201	0.142
K202	0.118
N204B	0.153
N205	0.116
R206	0.176
W207	0.14
Y208	0.18
Q209	0.366
M210	0.314
I212	0.323
V213	0.114
S214	0.595
W215	0.285
G216	1.228
E217	0.607
G219	0.812
C220	0.576
D221	0.959
R221A	0.287
K224	0.129
Y225	0.409
G226	0.459
F227	0.239
Y228	0.477
T229	0.154
H230	0.227
F232	0.165
R233	0.47
L234	0.127
W237	0.227
I238	0.113
Q239	0.288
K240	0.287
V241	0.448
I242	0.497
D243	0.553
Q244	0.217
G246	0.313
<b>C) Pk : Na<sup>+</sup> → Pk</b>	
V17	0.13
L41	0.108
S48	0.126
A113	0.1
N159	0.123
L160	0.119
I162	0.103
R173	0.584
C182	0.136
A183	0.15
G184	0.183
Y184A	0.129
K185	0.564
K186D	0.139
R187	0.15
G188	0.134
C191	0.129
E217	0.38
G219	0.161
C220	0.229
D221	0.143
R221A	0.702

Residue	$\Delta\delta$ , ppm
G223	0.252
K224	0.448
Y225	0.25
G226	0.116
<b>D) Pk : Na<sup>+</sup> → Na<sup>+</sup></b>	
A22	0.146
W29	0.107
C42	0.222
G43	0.472
A44	0.208
S45	0.15
L46	0.106
I47	0.174
S48	0.819
D49	0.978
R50	0.506
W51	0.409
V52	0.134
L53	0.346
A55	0.116
A56	0.1
H57	0.258
C58	0.305
L60	0.229
W60D	0.115
D60E	0.16
K60F	0.203
F60H	0.196
R67	0.109
K81	0.18
S83	0.194
I90	0.147
W96	0.142
R97	0.16
D100	0.119
R101	0.332
D102	0.21
I103	0.298
L105	0.228
K107	0.226
K110	0.146
V112	0.17
A113	0.195
S115	0.26
H119	0.157
C122	0.109
L123	1.028
E127	0.205
T128	0.208
A129	0.345
S129B	0.249
L130	0.121
Y134	0.128
V157	0.172
E164	0.136
K169	0.126
T172	0.111
I174	0.281
R175	0.177
I176	0.263
M180	0.212
F181	0.244
C182	0.201
A183	0.308
G184	0.385
G196	1.099
G197	0.577
F199	0.151
V200	0.297
M201	0.112
K202	0.124



Residue	$\Delta\delta$ , ppm
F204A	0.119
N204B	0.141
N205	0.106
R206	0.166
W207	0.153
Y208	0.175
Q209	0.371
M210	0.302
I212	0.328
V213	0.103
T229	0.173
H230	0.208
F232	0.158
L234	0.12
W237	0.226
I238	0.137
Q239	0.291
K240	0.297
V241	0.445
I242	0.432
D243	0.53
Q244	0.223
G246	0.324
<b>E) Hn : Na<sup>+</sup> → Hn</b>	
C168	0.176
G184	0.28
Y184A	0.19
K185	0.283
E186B	0.148
G186C	0.154
K186D	0.155
R187	0.112
G188	0.205
D189	0.39
W215	0.116
G226	0.18
T229	0.133
<b>F) Hn : Na<sup>+</sup> → Na<sup>+</sup></b>	
G19	0.106
S27	0.129
Q30	0.102
S36A	0.363
C42	0.103
G43	0.103
S45	0.214
L60	0.407
T60I	0.104
E61	0.12
N62	0.252
L64	0.498
L65	0.13
R67	0.378
K81	0.289
I82	0.224
M84	0.1
L85	0.121
L108	0.106
Y117	0.123
R187	0.105
<b>G) Hn → Apo (E217K)</b>	
G25	0.125
S27	0.171
Q30	0.299
F34	1.193
S36A	0.266
S45	0.367
W51	0.122
L53	0.164
A56	0.103



Residue	$\Delta\delta$ , ppm
T128	0.186
A129	0.357
A129A	0.103
S129B	0.248
L130	0.172
Q131	0.114
A132	0.133
Y134	0.175
N179	0.182
M180	0.325
F181	0.257
K202	0.187
F204A	0.13
N204B	0.104
N205	0.15
R206	0.136
W207	0.135
Y208	0.154
Q209	0.409
G211	0.158
I212	0.368
H230	0.147
V231	0.102
F232	0.154
R233	0.635
L234	0.135
W237	0.254
Q239	0.272
V241	0.38
I242	0.448
D243	0.477
Q244	0.113
G246	0.310
<b>I) Na<sup>+</sup> → Apo (E217K)</b>	
Q30	0.19
S36A	0.109
S45	0.144
L53	0.194
A56	0.109
L60	0.383
Y60A	0.114
R67	0.169
K81	0.105
I82	0.183
S83	0.177
Y94	0.157
W96	0.219
N179	0.123
M180	0.152
F181	0.334
H230	0.168