

利用同源建模、分子模拟和分子对接技术 分析家蚕中碳酸酐酶的结构和催化机制

陈胤熹¹, 黎菁菁¹, 罗佳伟¹, 郑少鹏¹, 余洁婷¹, 黄嘉惠², 李鑫尧¹, 余铭怡¹, 郝锦亨¹, 黎佩瑜¹, 古伟明³,
吴易达⁴, 曹诗林^{1,5*}, 赖林浩^{5*}

(1. 佛山科学技术学院食品科学与工程学院, 广东佛山 528000) (2. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510641)
(3. 广东工业大学轻工化工学院, 广东广州 510006) (4. 暨南大学理工学院, 广东广州 510640)
(5. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 该研究以来源于家蚕的碳酸酐酶为研究对象, 利用同源建模建立了家蚕碳酸酐酶的三维结构并预测了其潜在的活性区域。随后, 利用 Autodock-Vina 对家蚕碳酸酐酶和底物进行分子对接, 分析和评价了对接模型以及与乙酸对硝基苯酯底物对接过程中的相互作用。经分子动力学模拟和 MM/PBSA, 分析催化过程中家蚕碳酸酐酶的均方根偏差、溶剂可及面积以及径向分布函数。结果表明: 建模所得的酶结构可靠性良好 (完全允许区域为 89.3%, 允许区域 10.3%, 总和超过了 99%); 家蚕碳酸酐酶与底物的对接结合能为 -6.1 Kcal/mol; 范德华力在家蚕碳酸酐酶和底物的结合中占主导地位, 而极性溶剂化对结合有显著的反作用; 家蚕碳酸酐酶与底物的相互作用的区域为: 138L~150V 和 209L~217C; 同源建模所得的家蚕碳酸酐酶结构稳定 (模拟最后 50 ns RMSD 值约 0.35 nm)。该研究对后续进一步理性设计和改造家蚕碳酸酐酶提供了一定的理论支持。

关键词: 碳酸酐酶; 同源建模; 活性区域; 分子动力学模拟

文章编号: 1673-9078(2022)01-159-164

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.1.0178

Analysis of the Structure and Catalytic Mechanism of Carbonic Anhydrase in Silkworm by Homology Modeling, Molecular Simulation and Molecular Docking Techniques

CHEN Yinxi¹, LI Jingjing¹, LUO Jiawei¹, ZHENG Shaopeng¹, YU Jieting¹, HUANG Jiahui², LI Xinyao¹,
YU Minyi¹, HAO Jinheng¹, LI Peiyu¹, GU Weiming³, WU Yida⁴, CAO Shilin^{1,5*}, LAI Linhao^{5*}

(1.College of Food Sciences, Foshan University, Foshan 528000, China) (3.College of Food Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510641, China) (4.College of School of Chemical Engineering & Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China) (5.College of Institute of Technology, Jinan University, Guangzhou 510640, China) (6.College of Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this research, the carbonic anhydrase of *Bombyxmori* (BmCA) was used as the research object, the optimal three-dimensional引文格式:

陈胤熹,黎菁菁,罗佳伟,等.利用同源建模、分子模拟和分子对接技术分析家蚕中碳酸酐酶的结构和催化机制[J].现代食品科技,2022,38(1):159-164

CHEN Yinxi, LI Jingjing, LUO Jiawei, et al. Analysis of the structure and catalytic mechanism of carbonic anhydrase in silkworm by homology modeling, molecular simulation and molecular docking techniques [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(1): 159-164

收稿日期: 2021-02-20

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金佛山市联合基金(粤佛联合基金)青年基金项目(2019A1515110621); 广东普通高校青年创新人才项目(自然科学类)(2017KQNCX217); 佛山科学技术学院高层次人才启动项目(GG07016); 大学生创新创业训练计划项目(201911847023; S201911847097; S201911847091; XJ2019213; S202011847068; S202011847086; XJ2020219; XJ2020220); 广东省科技创新战略专项资金(大学生科技创新培育)项目(pdJh2020b0627)

作者简介: 陈胤熹(2000-), 男, 在读本科, 研究方向: 生物合成与生物转化, E-mail: 1173728663@qq.com; 通讯作者: 曹诗林(1987-), 男, 博士, 讲师, 硕士生导师, 研究方向: 生物合成与生物转化, E-mail: shilin.cao@qq.com; 赖林浩(1998-), 男, 工程师, 研究方向: 生物合成与生物转化

structure of the carbonic anhydrase from the silkworm was established by homologous modeling, and its potential active sites were predicted. Subsequently, autodock-vina was used to perform molecular docking between BmCA and the substrate, then the docking model and the interaction with the substrate, 4-nitrophenyl acetate, during the docking process were analyzed and evaluated. The root mean square deviation, solvent accessible area and radial distribution function of BmCA in the catalytic process were analyzed through molecular dynamics simulation and MM/PBSA. The result indicated that the reliability of the enzyme structure obtained by modeling was good (fully allowable region: 89.30%; allowable region: 10.30%; the sum: more than 99%). The binding energy for docking BmCA and substrate was -6.1 Kcal/mol; *Vander Waals* force was dominant in the binding between the silkworm's carbonic anhydrase and the substrate, the major contribution to binding was, whilst polar solvation antagonized strongly the binding; the regions where BmCA interacted with the substrate were 138L~150V and 209L~217C; The structure of BmCA obtained by homology modeling was stable (the RMSD value of the last 50 ns simulation was about 0.35 nm). This research provides certain theoretical support for further rational design and modification of BmCA.

Key words: carbonic anhydrase; homologous modeling; active site; molecular dynamics simulation

碳酸酐酶 (Carbonic Anhydrase, 碳酸酐酶) 是一种重要的含锌金属酶, 广泛存在于动、植物及微生物体中。碳酸酐酶不仅能够快速、高效地催化二氧化碳和碳酸氢盐的可逆转化而且还具有维持生物体内环境稳态、参与光合作用、钙化作用、CO₂ 及碳酸盐的转运等生命功能^[1]。由于碳酸酐酶的这些特性, 它既可用于生物检测, CO₂ 捕集和生理诊断等领域, 也被广泛应用于食品和药品工业中, 因此具有良好的经济价值和应用前景^[2-3]。

根据碳酸酐酶的氨基酸序列不同, 一般可分为 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ 、 η 、 θ 和 ι 等八种类型^[4], 游离的碳酸酐酶普遍存在着容易失活、热稳定性低、可重复利用率低等问题, 难以得到大规模应用^[5], 因此, 开拓更多来源的碳酸酐酶, 并对其进行分子改造和设计, 是解决该问题的潜在途径。获得准确的碳酸酐酶的三维结构是理性改造的基础。

目前已知的获得蛋白质结构的方法有很多, 例如: 核磁共振, X 射线单晶衍射、冷冻电镜等实验方法, 但是这些方法成本高, 耗时长, 难以得到更广泛的应用。另一方面, 可以使用蛋白质建模技术预测蛋白质的结构信息。蛋白质建模的方法包括同源建模和非同源建模。若在现有蛋白质结构数据库可检索出与目的蛋白具有序列同源性的模板, 则可进行同源建模。若无法得到同源模板, 或同源模板无法覆盖蛋白全序列, 则需要通过穿针引线、从头算或分段建模和结构域组装等方法进行建模。通过从 NCBI 与 SilkDB3.0 中获得大量的数据^[6,7], 使用同源建模将已知结构的蛋白质的序列与同源蛋白质序列进行比对, 通过分析蛋白质序列中的保守区域来识别蛋白质活性区域, 可望快速预测出蛋白质的结构信息^[8]。

家蚕 (*Bombyx mori*, Bm) 的第五龄幼虫的丝腺中存在着四种不同的上皮细胞, 其中一种产生活性碳酸酐酶, 用于调节家蚕内环境的 pH, 维持管腔内的

pH 梯度^[9]。本文以家蚕碳酸酐酶为研究的对象, 通过蛋白建模、结构分析、分子动力学模拟、分子对接等手段, 建立和分析了家蚕碳酸酐酶的蛋白质结构模型、活性区域和催化作用机制, 并对所建立的模型进行了一系列的计算评分, 最后采用分子动力学模拟对结果进行了验证。本文研究为家蚕碳酸酐酶后续的分子改造提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 数据库与软件

家蚕碳酸酐酶的基因和蛋白质序列信息来源于 NCBI 与 SilkDB3.0 数据库^[10]。NCBI 是美国国家分子生物学信息资源中心, 具有广大的公共数据库, 可用于检索和分析基因组数据等。而 SilkDB3.0 是由西南大学蚕丝科学与技术研究团队维护的家蚕的多组学数据库, 可进行可视化的多组学分析。蛋白质立体结构信息从蛋白质结构数据库 RCSB PDB 获得, 该数据库保存了通过 X 射线衍射、核磁共振、冷冻电镜等实验手段获得蛋白质等生物大分子的三维结构数据。利用 SWISS-MODEL 计算平台和 Modeller 软件进行蛋白质建模。其中 SWISS-MODEL 是一个自动化的蛋白质比较建模服务器。Modeller 是一款同源建模软件, 主要用于家蚕碳酸酐酶的优化与评价^[11]。利用 PROCHECK 评价蛋白质结构合理性^[12]。利用分子三维结构显示软件 PyMol 对蛋白质三维结构进行可视化分析^[13]。通过 Gromacs 软件^[14]考察酶在催化过程中结构变化及反应体系的状态变化。AutoDock-Vina 是由 Scripps 研究所的 Olson 实验室开发与维护的分子对接的开源软件^[15], 用于对乙酸对硝基苯酯底物与家蚕碳酸酐酶分子对接计算, 获得最优的对接结果, 获得对接模型后, 结合 gromacs 的 MM/PBSA 分析插件, 共同分析家蚕碳酸酐酶与底物间相互作用的具体数值和

具体部位。MM/PBSA^[16]是利用分子力学和连续介质模型来计算蛋白和配体之间存在的结合自由能，其中配体可以是蛋白、小分子或者多肽，在该方法中，计算分子力学（MM）、极性溶剂化能（PB）、非极性溶剂化能（SA）的相关能量得以被分解计算及分析。其中 PROCHECK、AutoDock-Vina 以及 Modeller 已经被本团队进行二次开发并部署于互联网在线平台中 (<https://atomevo.com/>)，开放给研究人员免费使用。

1.2 方法

1.2.1 碳酸酐酶同源建模

在 NCBI 数据库和 SIKKDB3.0 中获得家蚕碳酸酐酶的信息 (XP_004922882.1) 序列为: MDNRTVKID PKFLSAQPKKTSSDAEHISRLRPSQSPIAISLSRCPT WSSLDPLKFKGYWDSNANAILLNGSTAYFTFND ASVRPTLSGGPLIGEYIFEQMHFHSVDDFTGCEH VLDGHGYAAECHFVHYNKYESLETAVGHDPDGLA VVGFLLETVDAPNPRFDRLVQGLEGIQKRESVMN VTSESLWMDREDLQIGNYVTYKGLTTPPYTEC VTWIIYEKPVQIGSEQLGLLRQLEGPDSPQPIERNVR PTQRHPPGHSVIYVKQVRSKL。

首先使用 SWISS-MODEL^[17]对所得到的家蚕碳酸酐酶蛋白质序列进行模板搜索，筛选出酶种类接近、同源性高、序列覆盖度高的模板，并进行同源建模，其中 SWISS-MODEL 服务器模板数据库 ExPDB 是从 PDB 中提取的^[18]。

如出现单个模板无法覆盖整个目标序列的情况，则先进行分段建模，再进行穿针引线拼接。具体方法是：（1）若结构域存在同源性高的模板，则利用 SWISS-MODEL 进行同源建模，若部分结构域无同源模板，则使用 trRosetta 进行建模。（2）将得到的各结构域模型作为模板，使用本团队自行开发的 Modeller 软件的穿针引线拼接程序进行拼接，从而得到目标蛋白的结构。

1.2.2 碳酸酐酶潜在活性区域

综合分析 RCSB PDB 数据库中的模板，以及对应结构的参考文献中的活性区域信息进行分析。利用活性区域的信息包括：易形成疏水口袋、组氨酸聚集、活性中心金属离子临近区域。再通过比对 SWISS-MODEL 中最优结果酶蛋白氨基酸序列与 RCSB PDB 得到同样种属的酶蛋白的氨基酸序列，得出酶潜在的活性区域。

1.2.3 碳酸酐酶活性区域与底物的分子对接

以乙酸对硝基苯酯作为模型底物，以碳酸酐酶模型作为受体结构，利用 Auto Dock-Vina 模块中将受体

与配体进行对接。根据 1.2.2 得到碳酸酐酶活性区域的空间位置确立一个长方形盒子限制计算范围，计算得到盒子参数后与受体的 PDB 文件、配体的 PDB 文件共同上传至 Auto Dock-Vina 模块进行计算，并利用 Vina-XScore 连用模块，对分子对接结果进行评分，找出受体与配体结合模式^[15]。

1.2.4 家蚕碳酸酐酶的分子动力学模拟

本课题利用 Gromacs 软件进行分子动力学模拟^[19]，以 Amber03 力场。模拟步骤如下：首先，输入在 1.2.3 中对接后所输出的蛋白结构和力场参数的相关文件（电荷，键合参数和非键参数等势能函数）。随后，确定其体系的大小并且对体系进行能量最小化，再进行 NVT 与 NPT 平衡。随后开始 100 ns 分子模拟，并且分析模拟输出关于溶剂可及面积、氢键数目和径向分布函数的数据，并进行 MM/PBSA 分析。

2 结果与分析

2.1 家蚕碳酸酐酶同源建模及结构评价

首先通过 SWISS-MODEL 进行同源建模，结果显示家蚕碳酸酐酶的主要区域（25E-268K）可以利用 Protein Data Bank 中 4ZX1 模型为模板进行建模，但是 1M-24A 以及 269Q-274L 这两个区域缺少模板。因此先通过 SWISS-MODEL 同源建模得到主体结构区域。1M-24A 以及 269Q-274L 区域通过 trRosetta 进行非同源建模。随后利用本课题组自行开发的基于 Modeller 的穿针引线建模方法，将三个模板进行穿针引线拼接，得到家蚕碳酸酐酶模型。

Ramachandran plot 用于描述蛋白质结构中氨基酸残基二面角 ϕ 和 ψ 是否处于合理区域，可用于表征同源建模结果的合理性^[20]。结果表明（图 1）其完全允许区域（89.3%）与允许区域（10.3%），总和超过了 99%^[21]，表明本研究所得的家蚕碳酸酐酶结构合理。

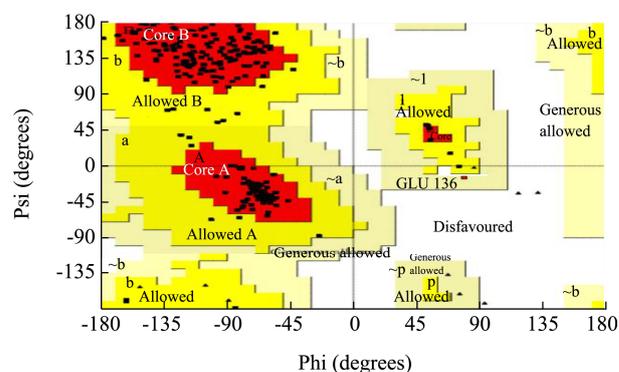


图 1 家蚕碳酸酐酶结构建模的拉氏分析图

Fig.1 The Ramachandran plot of BmCA

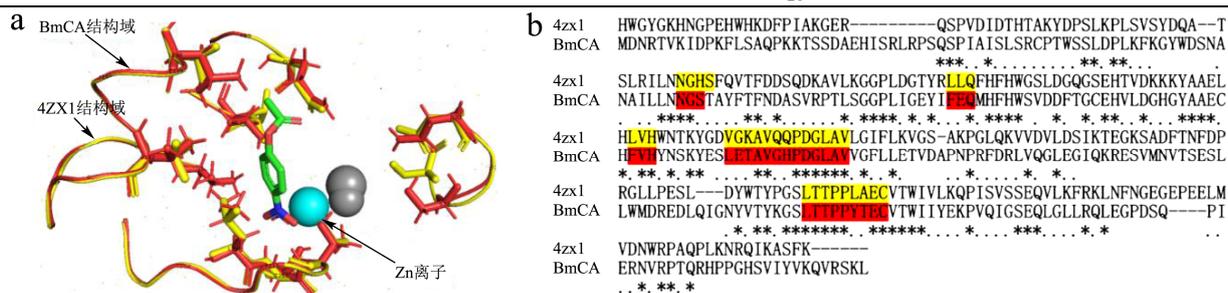


图2 4ZX1与BmCA蛋白质活性口袋叠合对比图(a), 4ZX1与BmCA蛋白序列比对(b)

Fig.2 Protein structure alignment of active pocket of 4ZX1 and BmCA (a), protein sequence alignment of 4ZX1 and BmCA (b)

注: 图a黄色为4ZX1号蛋白结构域, 红色为家蚕碳酸酐酶蛋白结构域; 图b黄色标记为4ZX1潜在活性区域、红色标记为BmCA潜在活性区域。

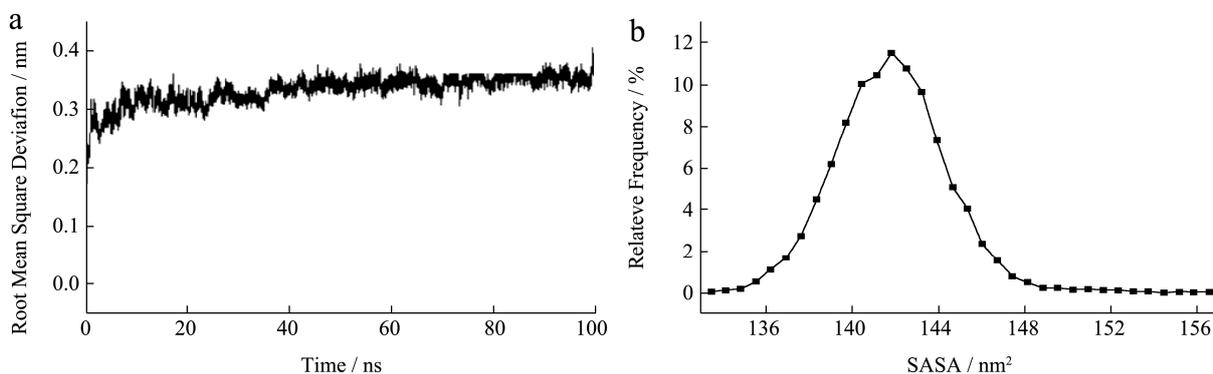


图3 家蚕碳酸酐酶在100 ns模拟过程中均方根偏差图(a)、家蚕碳酸酐酶在后50 ns模拟过程中可及面积频数分布图(b)

Fig.3 Root mean square deviation (RMSD) analysis of BmCA in 100 ns simulation (a), frequency distribution of solvent accessible surface (SASA) of BmCA in the last 50 ns simulation (b)

2.2 家蚕碳酸酐酶潜在活性部位分析

通过前人对与家蚕碳酸酐酶同种属的碳酸酐酶 IX (PDB 代号: 4XZ1) 的研究表明^[22], 4XZ1 的活性区域为 62N~65S, 89L~91Q, 120L~122H, 131V~143V, 198L~206C。利用分子叠合技术对家蚕碳酸酐酶与4XZ1的蛋白结构进行叠合对比(图2a), 确定家蚕碳酸酐酶活性口袋的空间位置。通过蛋白序列进行比对分析(图2b), 得到家蚕碳酸酐酶的潜在活性口袋为: 70N~72S (区域A), 98F~100Q (区域B), 128F~130H (区域C), 138L~150V (区域D), 209L~217C (区域E)。

以家蚕碳酸酐酶蛋白的活性口袋周边(空间中心坐标为 X=0.1、Y=1.4、Z=88)为对接位点, 通过Autodock-Vina进行蛋白与对乙酸对硝基苯酯之间的分子对接。对接后得到最优对接结果表明, 家蚕碳酸酐酶与底物结合能为-6.1 Kcal/mol。

2.3 家蚕碳酸酐酶的分子动力学模拟数据分析

均方根偏差(RMSD)分析可以揭示家蚕碳酸酐酶整体构象的稳定性。该结果显示(图3a), 在模拟的前10 ns, 家蚕碳酸酐酶 RMSD 迅速从0 nm 上升至0.3 nm, 随后在0.3 nm~0.35 nm左右波动。家蚕碳

酸酐酶最后50 ns的RMSD值约为0.35 nm, 表明该酶的结构稳定。家蚕碳酸酐酶最后50 ns的平均可及面积(图3b)为142 nm²。家蚕碳酸酐酶蛋白分子内平均氢键数(HBN)为181, 家蚕碳酸酐酶与水溶液间的平均氢键数为587。

径向分布函数可以揭示酶蛋白与水的分布距离以及对应的概率密度, 对模拟输出的数据作图分析, 研究表明水与家蚕碳酸酐酶在距离<0.35 nm 区间形成一个聚集峰, 该峰主要归因于水和蛋白之间的氢键作用(图4)。

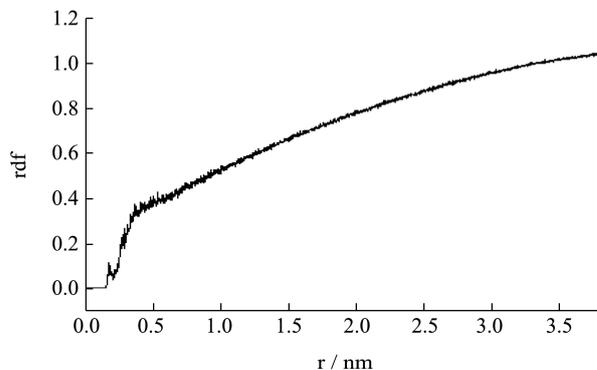


图4 家蚕碳酸酐酶与水的径向分布函数分析图

Fig.4 Radial distribution function (RDF) analysis of BmCA and water

2.4 家蚕碳酸酐酶 MM/PBSA 分析

在动力学分子模拟后,通过 MM/PBSA 法进一步分析对接模型的结合自由能,得到总结合能为-40.72 kJ/mol。其中,对自由能的贡献主要是范德华力的相互作用-57.86 kJ/mol。而极性溶剂化 21.39 kJ/mol,对结合有显著的反作用。通过分析蛋白质氨基酸残基结合能(图 4),得知家蚕碳酸酐酶对接后的模型中,分子间相互作用力主要存在于家蚕碳酸酐酶活性口袋中的 D、E 区域。

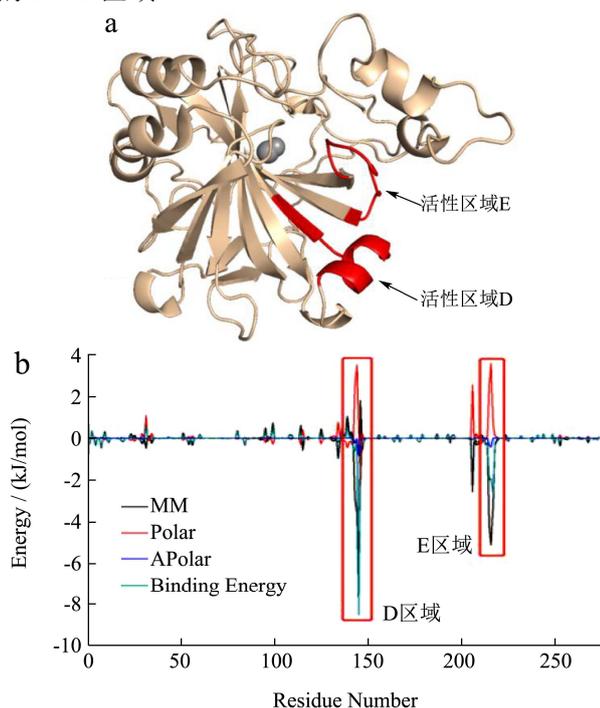


图 5 家蚕碳酸酐酶中的 D、E 活性区域结构图 (a); 家蚕碳酸酐酶与底物对乙酸对硝基苯酯的 g_mmpbsa 分析图 (b)

Fig.5 The D and E active region in BmCA (a), the g_mmpbsa analysis of BmCA and 4-nitrophenyl acetate (b)

表 1 家蚕碳酸酐酶的主要氨基酸残基与底物乙酸对硝基苯酯的 g_mmpbsa 分析结果

Table 1 The g_mmpbsa analysis of 4-nitrophenyl acetate and the main residues of BmCA

Protein residues	ΔE_{MM}	ΔG_{polar}	ΔG_{apolar}	ΔG_{total}
145PRO	-8.2401	0.5562	-0.8417	-8.5364
217CYS	-3.2648	0.6507	0	-2.6311
215THR	-4.1795	2.4989	-0.3413	-2.0224
216GLU	-5.1337	3.6078	-0.4313	-1.9137
143GLY	-2.8748	2.4676	-0.2266	-0.6263

注: 所有值的单位均为 kJ/mol。

3 结论

3.1 本文通过同源建模建立结构合理的家蚕碳酸酐

酶模型,结果显示其氨基酸残基处于完全允许区域(89.3%)与允许区域(10.3%)的总和超过了 99%。2010 年邓秋红等预测甘蓝型油菜碳酸酐酶结构,其模型的完全允许区域(87.0%)与允许区域(12.4%)总和超过 99%^[23],通过 Ramachandran plot 分析的结果与前人的研究数据对比,证明该酶结构模型可靠性良好。2015 年 Mahon Brian P 等研究碳酸酐酶 IX(PDB 代号: 4ZX1),获得了潜在活性区域为: 62N~65S、89L~92Q、120L~122H、131V~143V、198L~206C。利用分子叠合技术对家蚕碳酸酐酶与 4ZX1 的蛋白结构叠合对比,获得了家蚕碳酸酐酶潜在的活性口袋: 70N~72S、98F~100Q、128F~130H、138L~150V、209L~217C。结果表明同源建模所得的家蚕碳酸酐酶潜在活性区域与 4ZX1 号蛋白活性区域是相吻合的。

3.2 随后,利用 Autodock-Vina 将家蚕碳酸酐酶与乙酸对硝基苯酯进行对接,发现最优对接结果的家蚕碳酸酐酶与底物的结合能为-6.1 kcal/mol,2007 年向福利用分子对接技术研究与本文同种属的碳酸酐酶(PDB: 2CAB)与乙酰唑胺进行分子对接,得到对接结合能为-2.1 Kcal/mol^[24],经对比表明家蚕碳酸酐酶与底物乙酸对硝基苯酯对接得到的结果较为稳定。通过 MM/PBSA 探究家蚕碳酸酐酶与乙酸对硝基苯酯的相互作用,其结果表明:(1)范德华力在结合中占主导地位,而极性溶剂化对结合有显著的反作用;(2)家蚕碳酸酐酶和底物相互作用的区域为 138L~150V(区域 D)和 209L~217C(区域 E)。2013 年孙维琦等运用分子动力学模拟和自由能计算方法,研究了苯磺酰胺分子从碳酸酐酶 II 的活性位点的相互作用,显示关键残基 198L、199T 和 200T(该区域相当于本研究中的区域 E)与苯磺酰胺的氢键作用阻碍了底物从酶中的脱离^[25]。

3.3 综上所述,本文通过同源建模获得了一个良好的蛋白质结构模型,并通过分子模拟与分子对接技术探究其潜在活性位点与催化机制,为家蚕碳酸酐酶进一步改造探究以及实际生产应用提供理论依据。

参考文献

[1] Giuseppina De Simone, Claudiu T Supuran. (In) organic anions as carbonic anhydrase inhibitors [J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2012, 111: 117-129

[2] 潘丽,张守文,谷克仁.酶在食品工业中应用的研究进展[J].粮食与油脂,2016,29(5):1-4

PAN Li, ZHANG Shouwen, GU Keren. Research progress of enzyme application in food industry [J]. Cereals & Oils, 2016, 29(5): 1-4

- [3] 王瑞琴,陈德昭,韦尚升,等.酶在食品工业中的研究进展及应用[J].中国调味品,2019,44(4):184-186
WANG Ruiqin, CHEN Dezhaoh, WEI Shangsheng, et al. Research progress and application of enzyme in food industry [J]. China Condiment, 2019, 44(4): 184-186
- [4] E L Jensen, S C Maberly, B Gontero. Insights on the functions and ecophysiological relevance of the diverse carbonic anhydrases in microalgae [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(8): 2922
- [5] Sizhu Ren, Shuhui Jiang, Xunyou Yan, et al. Challenges and opportunities: porous supports in carbonic anhydrase immobilization [J]. Journal of CO₂ Utilization, 2020, 42(1-2): 101305
- [6] Mingzhang Yang, Myra K Derbyshire, Roxanne A Yamashita, et al. NCBI's conserved domain database and tools for protein domain analysis [J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2020, 69(1): 1-25
- [7] Lu Fang, Wei Zhaoyuan, LuoYongjiang, et al. SilkDB 3.0: visualizing and exploring multiple levels of data for silkworm [J]. Nucleic Acids Research, 2020, 48(D1): 749-755
- [8] 曾炳佳,曹以诚,杜正平,等.同源建模关键步骤的研究动态[J].生物学杂志,2008,2:7-10
ZENG Bingjia, CAO Yicheng, DU Zhengping, et al. Trends in the researches on key procedure of homology modeling [J]. Journal of Biology, 2008, 2: 7-10
- [9] Domigan L J, Andersson M, Alberti K A, et al. Carbonic anhydrase generates a pH gradient in bombyxmori silk glands [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2015, 65: 100-106
- [10] Xia Q, Wang J, Zhou Z, et al. The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm bombyxmori [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2009, 38(12): 1036-1045
- [11] Webb B, Sali A. Protein structure modeling with modeller [J]. Methods Mol Biol, 2014, 1137(1137): 145-159
- [12] Laskowski R A, Macarthur M W, Moss D S, et al. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures [J]. Journal of Applied Crystallography, 1993, 26(2): 283-291
- [13] Delano W L. The PyMol molecular graphics system [J]. Proteins Structure Function and Bioinformatics, 2002, 30: 442-454
- [14] Berendsen H, Spoel D, Drunen R V Berendsen, et al. Gromacs: a message-passing parallel molecular dynamics implementation [J]. Computer Physics Communications, 1995, 91(1-3): 43-56
- [15] Trott, Oleg, Olson, et al. AutoDock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. Journal of Computational Chemistry, 2009, 31(2): 455-461
- [16] Rd M B, Jr M, Swails J M, et al. MMPBSA.py: an efficient program for end-state free energy calculations [J]. Journal of Chemical Theory & Computation, 2012, 8(9): 3314
- [17] Andrew W, Martino B, Stefan B, et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes [J]. Nucleic Acids Research, 2018, W1: 296-303
- [18] Bertoni Martino, Kiefer Florian, Biasini Marco, et al. Modeling protein quaternary structure of homo- and hetero-oligomers beyond binary interactions by homology [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 10480
- [19] David V D S, Van M P J, Carl C. GROMACS molecule & liquid database [J]. Bioinformatics, 2012, 28(5): 752-753
- [20] Laskowski R A, Macarthur M W, Thornton J M. PROCHECK: Validation of Protein - Structure Coordinates [M]. International Tables for Crystallography. American Cancer Society, 2012: 684-687
- [21] Laskowski R A, Macarthur M W, Moss D S, et al. PROCHECK: a Program to Check the Stereochemical Quality of Protein Structures [M] Journal of Applied Crystallography, 1993, 26(2): 283-291
- [22] Mahon Brian P, Lomelinorrie C L, Ladwig Janina, et al. Mapping selective inhibition of the cancer-related carbonic anhydrase IX using structure-activity relationships of glucosyl-based sulfamates [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 58(16): 6630-6638
- [23] 邓秋红,栗茂腾,向福,等.甘蓝型油菜 β 碳酸酐酶的结构预测[J].生物技术通报, 2010,1:111-117
DENG Qiuhong, LI Maoteng, XIANG Fu, et al. Structure prediction of β carbonic anhydrase from *Brassica napus* [J]. Biotechnology Bulletin, 2010, 1: 111-117
- [24] 向福.基于 CA 等的分子进化及对接技术在药物筛选中的应用[D].武汉:华中科技大学,2007
Xiang Fu. Application of CA-based molecular evolution and docking technology in drug screening [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2007
- [25] 孙维琦,张继龙,郑清川,等.苯磺酰胺从碳酸酐酶 II 中脱离过程的分子动力学模拟[J].物理化学学报,2013,29(4):843-848
SUN Weiqi, ZHANG Jilong, ZHENG Qingchuan, et al. Molecular dynamics simulations of the unbinding of phenylsulfonamide from carbonic anhydrase II [J]. Acta Physico-Chimica Sinica, 2013, 29(4): 843-848