

黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶与柚皮苷 分子动力模拟研究

巩建业¹, 吴喆瑜¹, 刘嘉男¹, 廖辉¹, 李利君^{*1,2}, 倪辉^{1,2}

(1. 集美大学 食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室, 福建 厦门 361021)

摘要: α -L-鼠李糖苷酶能够水解柚皮苷生产普鲁宁和 L-鼠李糖, 可用于柑橘类果汁的脱苦处理。对柚皮苷和黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶进行分子对接, 采用分子动力模拟和 MM-PBSA 结合的方法计算对接复合物的结合自由能, 并分析了分子间相互作用以及各个残基对结合自由能的贡献。结果表明范德华作用力是黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶与柚皮苷结合的主要驱动力, 库伦电荷作用和非极性溶剂化能对结合贡献较小。Trp236、Ala340、Ile462、Phe461、Tyr516、Val522、Trp528 等是黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶和柚皮苷结合过程中形成疏水作用的重要氨基酸残基。在分子动力模拟平衡后的氢键分析中, 黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶 Ser286、Phe465、Pro520 残基和柚皮苷共形成了 3 个稳定的氢键。本研究分析了黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶与柚皮苷结合的驱动力, 以及结合过程中重要氢键及疏水性残基, 为蛋白质工程改造 α -L-鼠李糖苷酶提供了靶位。

关键词: α -L-鼠李糖苷酶; 柚皮苷; 分子对接; 分子动力模拟; MM-PBSA

中图分类号: Q 816 文章编号: 1673-1689(2019)12-0066-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.12.010

Molecular Dynamics Investigations of *Aspergillus niger* α -L-rhamnosidase with Naringin

GONG Jianye¹, WU Zheyu¹, LIU Jianan¹, LIAO Hui¹, LI Lijun^{*1,2}, NI Hui^{1,2}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Food Microbiology and Engineering, Xiamen 361021, China)

Abstract: α -L-Rhamnosidase generates prunin and L-rhamnose by hydrolyzing naringin, which can be used to debittering citrus juices. In the present study, the α -L-rhamnosidase, previously identified from *Aspergillus niger* JMU-TS528, was docked with naringin and the binding energy was calculated by molecular dynamics simulation and MM-PBSA method. The results of binding energy indicate that van der Waals force is the main driving force for enzyme-substrate combination; whereas the electrostatic interaction and non-polar solvents contribute less. In addition, the critical amino acid residues for hydrophobic effect are Trp236, Ala340, Ile462, Phe461, Tyr516, Val522 and Trp528.

收稿日期: 2017-06-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371751); 福建省农业高校产学研合作重大项目(2014NS010)。

* 通信作者: 李利君(1973—), 女, 博士, 教授, 主要从事食品化学与食品生物技术研究。E-mail: ljli@jmu.edu.cn

引用本文: 巩建业, 吴喆瑜, 刘嘉男, 等. 黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶与柚皮苷分子动力模拟研究[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(12): 66-72.

Ser286, Phe465 and Pro520 are important amino acid residues which could form steady hydrogen bonds with naringin. The key amino acid residues identified in the study provides valuable targeting sites for remoulding α -L-rhamnosidase in protein engineering.

Keywords: α -L-rhamnosidase, naringin, molecular docking, molecular dynamics simulation, MM-PBSA

柑橘是全球第一大种植和消费水果,是仅次于小麦和玉米的第三大国际贸易农产品^[1]。目前对于柑橘类水果的主要加工方式为外果皮生产蜜柚香精、皮囊渣等提取果胶和鲜切柚果等,但对比橙子、柠檬等柑橘类水果,产量最大、附加值最高的蜜柚果汁类产品始终无法深入开发,主要原因是蜜柚压榨果汁具有明显的苦味,这大大制约了蜜柚的高附加值利用^[2]。柚皮苷是柑橘类果汁加工中后呈苦味的重要物质之一,而 α -L-鼠李糖苷酶能高效降解柚皮苷,生成有医用价值的普鲁宁和 L-鼠李糖^[3-4]。但工业生产中往往需要性质更优良的 α -L-鼠李糖苷酶,这就需要进行蛋白质工程改造。研究酶与底物相互作用方式,可为工程改造奠定基础^[5]。

随着核磁共振、X 射线衍射、冷冻电镜及同源建模、从头计算等解析蛋白质结构技术的发展,越来越多的蛋白质三维结构被测出来。这为研究蛋白质与底物小分子奠定了基础。分子对接是一种静态的研究受体大分子与配体小分子结合作用的分子模拟方法,并通过对接相互作用能、关键残基等方面评价受体与配体的相互作用^[6]。分子动力模拟按照给定温度下的麦克斯韦速率分布给原子赋予一定的初始速度,在一定的初始条件下求解牛顿第二定律的微分方程,得到蛋白质中所有原子的运动轨迹^[7],MM-PBSA 计算结合自由能可以在一定程度上反映受体与配体之间结合的主要推动力^[8]。因此,在基于黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶和柚皮苷结构的基础上进行分子对接和分子动力模拟,进而利用 MM-PBSA 法计算结合自由能,分析黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶和柚皮苷结合主要推动力,并揭示结合过程中起关键作用的氨基酸,探讨 α -L-鼠李糖苷酶和柚皮苷的结合机理,可为开发更高效降解柚皮苷的 α -L-鼠李糖苷酶提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 模型构建及分子对接

黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶 (NCBI 登录号: AGN92963.1) 三维空间结构由实验室在前期研究中使用 Modeller 9.15 构建^[9],柚皮苷三维空间结构由 ChemBio office 2015 构建并进行能量最小化。分子对接使用 Autodock 4.0 软件,对接算法采用 Autodock 4.0 软件自带的遗传算法,对接中心为 (69.602, 7.157, 22.046),对接盒子大小为 (82×62×66) Å³,共对接 100 次,选择构象最佳的对接结果,使用 Pymol 1.6.5 软件进行分析并作图。

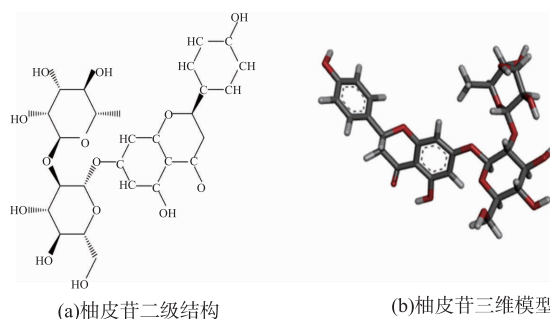


图 1 柚皮苷二级结构和三维模型

Fig. 1 Secondary structures and three-dimensional model of naringin

1.2 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶复合物分子动力模拟

柚皮苷-黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶复合物结构取自分子对接产生的最佳对接构象,分子动力模拟采用 Gromacs5.14^[10]软件,向体系中加入 SPC 模型的水分子,为保证整个体系的整体电中性,加入了 12 个 Na⁺离子。黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶使用力场为 GROMOS96 53a6,柚皮苷采用全原子 OPLS 力场。复合体系远程静电相互作用使用 PME^[11]方法计算,其中栅格宽度为 1.0 Å;采用 LINCS^[12]算法约束所有键长。范德华和库伦相互作用的截断半径均为 1.4 nm,短程邻近截断距离为 1.0 nm。先对复合体系进行了能量最小化以移除体系的空间立体冲突,再对体系进行了 1 ns 的 NVT (the constant Number of particles, Volume and Temperature) 和 51 ns 的 NPT

(the constant Number of particles, Pressure and Temperature)模拟,之后对体系进行了20 ns的非限制性分子动力模拟,并分别分析体系中 α -L-鼠李糖苷酶柚皮苷均方根偏差(RMSD)。

1.3 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶复合物 MM-PBSA 结合自由能计算

分子力学泊松-玻尔兹曼表面积(molecular mechanics Poisson-Boltzmann surface area, MM-PBSA)法^[13-14]常被用于计算受体与配体分子动力模拟后结合自由能。采用 G_mmpbsa 工具计算柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶分子动力模拟平衡后结合自由能,结合自由能越低说明受体与配体之间的亲和力越高^[15-16]。将总结合自由能分解到各个残基上,可以直观得看到各种相互作用的贡献。

1.4 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶复合物疏水作用及氢键分析

取柚皮苷-黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶复合物分子动力模拟最后的构象,使用 Ligplot 软件分析疏水作用残基。对分子动力模拟平衡后的运动轨迹,使用 VMD 软件进行氢键分析,并记录供体、受体、键长。

2 结果与讨论

2.1 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶分子对接

许多报道^[17-19]已经证实(α/α)₆桶装结构域是 α -L-鼠李糖苷酶的催化结构域。在100次对接结果中,柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶的对接位置均在(α/α)₆的桶装结构域底部的loop区,这与Grandits等人^[19]的分子对接结果完全吻合。图2(a)显示了柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶最佳对接结果得相对位置,图2(b)显示了柚皮苷4Å范围内可能有结合作用的氨基酸。Autodoc4.2依据半经验的自由能计算方法来评价受体和配体之间的能量匹配,其值越小表明配体与受体之间的亲和力越好^[20]。在100次对接实验结果中结合自由能均为负值,最佳对接结果的结合作用能为-6.81 kcal/mol,这表明柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶有良好的结合作用。

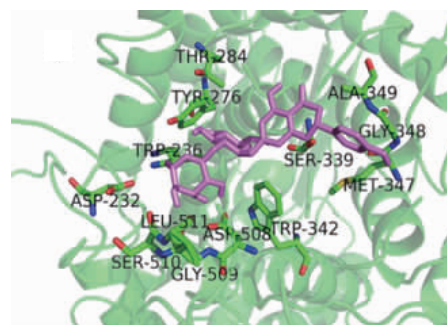
2.2 柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶复合物分子动力模拟

我们对柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶模型复合物进行了20 ns的分子动力模拟,均方根偏差(RMSD)反应出2个分子结构相同原子间的距离,可以用来评价体系稳定性,若均方根偏差随时间的

变化较小,则表明体系达到平衡状态^[21]。图3显示了在20 ns模拟过程中RMSD随时间变化的结果, α -L-鼠李糖苷酶在8.0 ns左右达到了平衡状态,柚皮苷在2.5 ns达到了平衡状态。分子动力模拟平衡后的轨迹用于进一步分析。



(a)柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶空间相对位置



(b)柚皮苷及其4Å范围内氨基酸

图2 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶分子对接结果

Fig. 2 Molecular docking of naringin and *Aspergillus niger* α -L-rhamnosidase

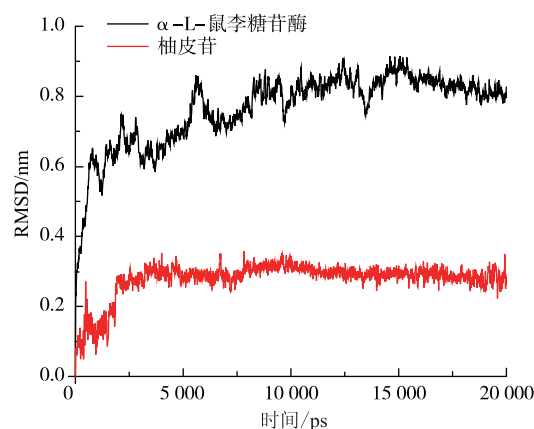


图3 柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶分子动力模拟 RMSD

Fig. 3 Molecular dynamics simulation RMSD of naringin and *Aspergillus niger* α -L-rhamnosidase

2.3 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶 MM-PBSA 总结合自由能

分子力学泊松-玻尔兹曼表面积 (MM-PBSA) 是用于受体与配体分子动力模拟后计算结合自由能的一种方法,结合自由能由分子力学能量(MM 部分),即真空中范德华力和库仑静电相互作用能,极化溶剂化能(PB 部分),非极性溶剂化能(SA 部分)三部分组成,计算所得的结合自由能可用来反映配体与受体结合的稳定性^[22]。表 1 列出了柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶对结合自由能贡献的各项能量值。柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶之间的范德华力、库仑静电相互作用,极性溶剂化能和非极性溶剂化能分别为 -285.931, -24.353, 119.325 kJ/mol 和 -27.068 kJ/mol, 这表明柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶相互作用以范德华作用力为主,静电相互作用及非极性溶剂化能力对结合自由能贡献较小,极性溶剂化能阻碍柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶的结合。此外,在开发酶抑制剂时,往往也需要考虑抑制剂与酶分子的相互作用力,计算柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶相互作用力为开发酶抑制剂提供了思路。

表 1 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶复合物结合自由能
Table 1 Binding free energy of complex of naringin and *Aspergillus niger* α -L-rhamnosidase

结合自由能贡献项	能量值/(kJ/mol)
ΔE_{vdw}	-285.931 +/- 1.456
ΔE_{elec}	-24.353 +/- 0.614
ΔE_{PB}	119.325 +/- 1.081
ΔE_{SASA}	-27.068 +/- 0.127
ΔE_{bind}	-218.099 +/- 1.532

注: ΔE_{vdw} 为气相下柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶残基间的范德华作用; ΔE_{elec} 为气相下柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶残基间的静电相互作用; ΔE_{PB} 为柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶残基间的极性溶剂化能; ΔE_{SASA} 为柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶残基间的非极性溶剂化能; ΔE_{bind} 为复合物总的结合自由能。

2.4 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶 MM-PBSA 结合自由能分解

为了揭示黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶中与柚皮苷结合的关键氨基酸,将 MM-PBSA 总结合自由能分解到各个氨基酸残基上(见图 4),发现 Trp236、Asp239、Pro276、Ser339、Ala340、Asp341、Tyr359、Phe461、Phe465、Phe501、Glu503、Tyr516、Pro520、Val522 这 14 个残

基对总结合自由能贡献值较大。表 2 列出了这些关键氨基酸的 MM-PBSA 结合能分解,除 Glu503 与柚皮苷的主要作用方式为极性溶剂化能外,其它残基与柚皮苷的主要作用方式均为范德华力和库伦电荷作用,另外 Asp239 也发挥了有利于柚皮苷结合的极性溶剂化能。这为蛋白质工程设计更高效 α -L-鼠李糖苷酶分子提供了理论数据。

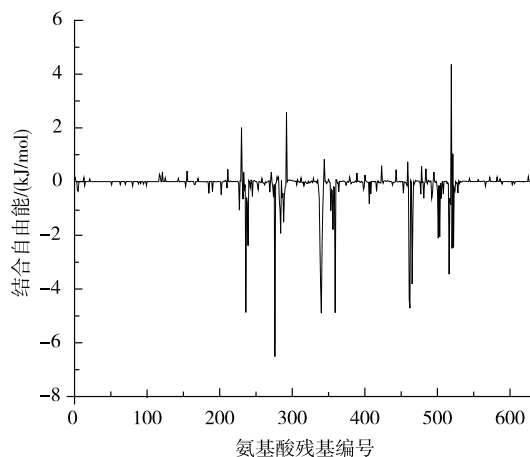


图 4 柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶复合物结合自由能分解图
Fig. 4 Binding free energy of complex of naringin and *Aspergillus niger* α -L-rhamnosidase

2.5 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶疏水作用分析

非极性相互作用能对结合自由能有促进作用,柚皮苷可与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶形成较多的疏水相互作用。图 5 为通过 Ligplot 软件统计显示的柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶结合状态下的疏水氨基酸残基。

由图 5(a)可知在柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶结合过程中,Trp236、Ala340、Ile462、Phe461、Tyr516、Val522、Trp528 等残基均与柚皮苷形成了疏水相互作用。将这些残基对应于三维空间模型,可以发现这些氨基酸残基在 α -L-鼠李糖苷酶(α/α)₆ 桶装催化结构域底部形成了一个疏水性口袋,而底物柚皮苷被包裹在这个疏水口袋里(图 5(b))。由此可见疏水作用可能是 α -L-鼠李糖苷酶(α/α)₆ 桶能够结合柚皮苷的重要原因。

2.6 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶氢键作用分析

通过对柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶结合自由能和疏水作用的分析,发现极性相互作用虽然很大程

表 2 黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶中与柚皮苷复合体系结合自由能分解表
Table 2 Binding free energy of complex of naringin and *Aspergillus niger* α -L-rhamnosidase

氨基酸残基	MM/(kJ/mol)	PB/(kJ/mol)	SA/(kJ/mol)	结合自由能
Trp236	-7.0797	2.9798	-0.8010	-4.8702
Asp239	-1.9803	-0.3953	-0.0109	-2.3882
Pro276	-9.7800	3.7496	-0.4974	-6.5125
Ser339	-9.2192	6.1270	-0.7908	-3.8930
Ala340	-6.7569	2.4466	-0.5792	-4.8975
Asp341	-3.9270	1.6277	0	-2.3119
Tyr359	-5.9168	1.3300	-0.2986	-4.8771
Phe461	-7.2892	3.7843	-0.8840	-4.3872
Ile462	-4.4851	0.1164	-0.3428	-4.7131
Phe465	-4.9330	1.3734	-0.2459	-3.8069
Phe501	-2.9544	1.3127	-0.4614	-2.1071
Glu503	-0.4880	-1.5699	0	-2.0601
Tyr516	-3.9066	0.9046	-0.4495	-3.4492
Pro520	-4.9326	3.0577	-0.6154	-2.4860
Val522	-3.8770	1.8340	-0.4045	-2.4496

注:MM 部分(分子力学能量)指真空中范德华力和库仑静电相互作用能, PB 部分指极性溶剂化能, SA 部分非极性溶剂化能, 结合自由能为 MM, PB, SA 三部分总和。

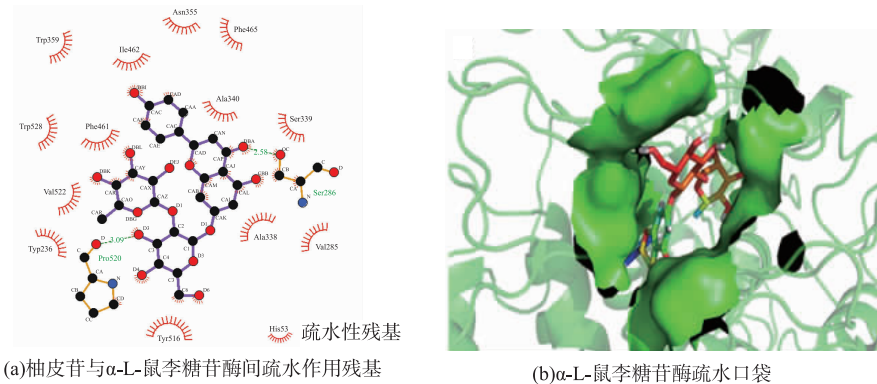


图 5 柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶间疏水作用残基及疏水作用口袋

Fig. 5 Hydrophobic residue and hydrophobic pockets of naringin and *Aspergillus niger* α -L-rhamnosidase

度上表现为阻碍柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶, 但并不是所有形成极性相互作用的氨基酸都不利于结合的形成, 例如 Ser286 在结合过程中也表现出了有利于结合自由能的极性作用, 因为在结合过程中它与柚皮苷形成了氢键。利用 VMD 软件我们分析了分子动力模拟中平衡后的氢键, 将体系中稳定的氢键统计在表 3 中。

在分子动力模拟平衡后的分析中, 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶形成 3 条氢键, 这 3 个关键

的氨基酸残基分别为 Ser286、Phe465、Pro520, 且氢键的占有率均为 100%。氢键分析帮助我们进一步确定了柚皮苷与 α -L-鼠李糖苷酶之间结合的关键氨基酸位点。Rafanl 等^[22]利用分子动力模拟方法设计提高甘露聚糖酶活力时, 提出与底物形成氢键的关键氨基酸可以作为改变酶活力的候选点。本研究分析得到的 Ser286、Phe465、Pro520 可以作为进一步 α -L-鼠李糖苷酶活力的候选点, 为蛋白质工程改造黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶活力提供新思路。

表 3 柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶分子动力模拟过程中氢键分析

Table 3 Hydrogen bond of molecular dynamic simulation of naringin and *Aspergillus niger* α -L-rhamnosidase

供体	受体	键长	占有率
Ser286-OH	柚皮苷-O	2.58	100%
柚皮苷-OH	Phe465-H	3.49	100%
柚皮苷-O	Pro520-O	1.09	100%

3 结 语

越来越多的人采用分子动力学研究生物分子相互作用时的动态变化过程。作为一个被广泛应用的重要手段,分子动力学模拟在揭示配体-受体相

互作用关系方面变得日益重要^[23-24]。本研究表明范德华力是柚皮苷与黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶结合的主要驱动力,库伦静电力和非极性溶剂化能对于结合作用较小。疏水作用分析发现柚皮苷结合在 Trp236、Ala340、Ile462、Phe461、Tyr516、Val522、Trp528 等残基形成在一个疏水性口袋里面,而 Ser286、Phe465、Pro520 与柚皮苷形成了稳定的 3 条氢键。这些位点都是黑曲霉 α -L-鼠李糖苷酶与柚皮苷相互作用的关键位点,为深入研究 α -L-鼠李糖苷酶与柚皮苷的构效关系确定了实验靶点。因此本研究为了解 α -L-鼠李糖苷酶与柚皮苷之间的相互作用提供了重要信息,同时也为 α -L-鼠李糖苷酶的抑制剂的开发和 α -L-鼠李糖苷酶的定向改造提供了理论支持。

参考文献:

- [1] 郑绍. 柑橘产业集群化发展战略的研究[D]. 湖北工业大学,2016.
- [2] STINCO C M, FERNANDEZ R, HERNANZ D, et al. Industrial orange juice debittering: impact on bioactive compounds and nutritional value[J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 116(1): 155-161.
- [3] MONTI D, PISVEJCOVA A, KREN V, et al. Generation of an α -L-rhamnosidase library and its application for the selective derhamnosylation of natural products[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2004, 87(6): 763-771.
- [4] YU H, GONG J, ZHANG C, et al. Purification and characterization of ginsenoside- α -L-rhamnosidase[J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2002, 50(2): 175-178.
- [5] ZHANG Xia, LI Lijun, NI Hui, et al. Progresses on molecular biology and structural biology of α -L-rhamnosidase from microbial sources[J]. *Life Science Research*, 2015. (in Chinese)
- [6] REINIKAINEN T, RUOHONEN L, NEVANEN T, et al. Investigation of the function of mutated cellulose - binding domains of *Trichoderma reesei* cellobiohydrolase I[J]. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 1992, 14(4): 475-482.
- [7] ZHANG L, DING Y. The relation between lipase thermostability and dynamics of hydrogen bond and hydrogen bond network based on long time Molecular Dynamics Simulation[J]. *Protein and Peptide Letters*, 2017.
- [8] KUMARI R, KUMAR R, LYNN. g_mmpbsa a gromacs tool for high-throughput MM-PBSA calculations [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2014, 54(7): 1951-1962.
- [9] WU Zheyu, YU Yue, GONG Jianye, et al. Secondary structure prediction and three-dimensional structure simulation of the recombinant α -L-rhamnosidase Rha1[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017(6): 1-11. (in Chinese)
- [10] LINDAHL E, HESS B, VAN D. GROMACS 3.0: a package for molecular simulation and trajectory analysis[J]. *Journal of Molecular Modeling*, 2001, 7(8): 306-317.
- [11] HESS B, BEKKER H, BERENDSEN H, et al. LINCS: a linear constraint solver for molecular simulations[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 1997, 18(12): 1463-1472.
- [12] SAGUI C, DARDEN T A. Molecular dynamics simulations of biomolecules: long-range electrostatic effects [J]. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 1999, 28(1): 155-179.
- [13] ZHANG Y, PAN D, SHEN Y, et al. Understanding the molecular mechanism of the broad and potent neutralization of HIV-1 by antibody VRC01 from the perspective of molecular dynamics simulation and binding free energy calculations[J]. *Journal of Molecular Modeling*, 2012, 18(9): 4517-4527.
- [14] WANG J, MORIN P, WANG W, et al. Use of MM-PBSA in reproducing the binding free energies to HIV-1 RT of TIBO derivatives and predicting the binding mode to HIV-1 RT of efavirenz by docking and MM-PBSA[J]. *Journal of the American*

- Chemical Society**, 2001, 123(22):5221-5230.
- [15] TAKAMATSU Y, SUGIYAMA A, PURQON A, et al. Binding free energy calculation and structural analysis for antigen-Antibody Complex[C]. Tokuyama M, Maruyama S. AIP Conference Proceedings. AIP, 2006, 832(1):566-569.
- [16] DELANO W L. Pymol: an open-source molecular graphics tool[J]. CCP4 Newsletter on protein crystallography, 2002, 40(1): 82-92.
- [17] ZVERLOV V V, HERTEL C, BRONNENMEIER K, et al. The thermostable α -L-rhamnosidase RamA of clostridium stercorarium; biochemical characterization and primary structure of a bacterial α -L-rhamnoside hydrolase, a new type of inverting glycoside hydrolase[J]. **Molecular Microbiology**, 2000, 35(1):173-179.
- [18] O'Neill E C, STEVENSON C E M, PATERSON M J, et al. Crystal structure of a novel two domain GH78 family α -L-rhamnosidase from *Klebsiella oxytoca* with rhamnose bound [J]. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, 2015, 83(9):1742-1749.
- [19] GRANDITS M, MICHLMAYR H, SYGMUND C, et al. Calculation of substrate binding affinities for a bacterial GH78 rhamnosidase through molecular dynamics simulations[J]. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 2013, 92:34-43.
- [20] ERMAKOVA. Structural insight into the glucokinase-ligands interactions. molecular docking study[J]. **Computational Biology and Chemistry**, 2016, 64:281-296.
- [21] SHUKLA H, SHUKLA R, SONKAR A, et al. Distant Phe345 mutation compromises the stability and activity of *Mycobacterium tuberculosis* isocitrate lyase by modulating its structural flexibility[J]. **Scientific Reports**, 2017, 7(1):1058.
- [22] BERNARDI R C, CANNI, SCHUITEN K. Molecular dynamics study of enhanced Man5B enzymatic activity[J]. **Biotechnology for Biofuels**, 2014, 7(1):83.
- [23] WANG Y, ZHENG Q C, KONG C P, et al. Heparin makes differences: a molecular dynamics simulation study on the human β II-tryptase monomer[J]. **Molecular Bio Systems**, 2015, 11(1):252-261.
- [24] SUN X, FENG Z, ZHANG L, et al. The selective interaction between silica nanoparticles and enzymes from molecular dynamics simulations[J]. **PloS One**, 2014, 9(9):e107696.

会 议 消 息

会议名称: 2020 年第 7 届国际食品与农业科学会议 (ICFAS 2020)

会议时间: 2020 年 4 月 14—16 日

会议地点: 泰国曼谷

会议网址: <http://www.icfas.org/index.html>

会议简介: 欢迎加入 2020 年第 7 届国际食品与农业科学会议 (ICFAS 2020), 该会议将于 2020 年 4 月 14-16 日在泰国曼谷召开。ICFAS 2020 所有被选择和发表的论文将会根据主题出版在以下国际期刊中:

1. 先进农业期刊(JOAT), 该期刊将会被加入: Irich's Periodicals Directory, Crossref, Google Scholar, etc.
2. 国际食品工程期刊(IJFE), 该期刊将会被加入: WorldCat, Google Scholar, Crossref, etc.

联系人: 蒋女士 (会议秘书)

E-mail: icfas@iacsitp.com

Tel: +86-28-86512185 (周一到周五, 10:00-17:00)