

嗜酸氧化亚铁硫杆菌的核糖-5-磷酸异构酶的同源建模研究*

陈锋菊¹, 刘元东², 高 健¹, 孙远东¹

(1. 湖南科技大学生命科学学院, 湖南 湘潭 411201;

2. 中南大学资源加工与生物工程学院, 湖南 长沙 410083)

摘 要: 采用同源建模技术和分子动力学模拟方法, 构建了嗜酸氧化亚铁硫杆菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*A. f.*) 的核糖-5-磷酸异构酶 (*rpiA*) 基因编码的蛋白质三维分子结构模型。将结构模型进行绑定位点搜索并与底物核糖-5-磷酸 (R5P) 进行柔性分子对接, 结果显示, R5P 被招募到 *A. ferrooxidans* 的 RpiA 的活性位点并随后被激活; 残基 Asp81, Thr31, Lys121, Ser30, Glu103, Asp84, Lys94, Asp118, Lys7, Gly97, Gly29, Gly95, Thr28 和 H₂O 对底物绑定或催化起重要作用, 其中, Gly97, Gly29, Gly95 和 Thr28 是新识别的残基, 它们在其他生物体的 RpiA 中相当保守但未被发现。

关键词: 嗜酸氧化亚铁硫杆菌; 核糖-5-磷酸异构酶; 结构模型; 分子对接; 核糖-5-磷酸

中图分类号: Q936 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2010) 04-0093-06

Homology Modeling of RpiA from *Acidithiobacillus ferrooxidans*

CHEN Fengju¹, LIU Yuandong², GAO Jian¹, SUN Yuandong¹

(1. School of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China;

2. School of Resources Processing and Bioengineering, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: A three-dimensional protein molecular structure, which was encoded by the gene Ribose-5-phosphate isomerase A (RpiA) from *Acidithiobacillus ferrooxidans*, was constructed by the homology-modeling technique and molecular-dynamics simulation. The obtained structure was applied to search binding sites and carry out flexible docking with the substrate ribose-5-phosphate (R5P). The results showed that the substrate R5P can be effectively recruited into the active pocket and be activated immediately; the residues of Asp81, Thr31, Lys121, Ser30, Glu103, Asp84, Lys94, Asp118, Lys7, Gly97, Gly29, Gly95, Thr28 and H₂O play a critical role in the binding or catalysis of R5P. Among the above residues, Gly97, Gly29, Gly95, Thr28 are fitly conserved in RpiA from all kinds of sources but have not been detected before.

Key words: ribose-5-phosphate isomerase A (RpiA); *Acidithiobacillus ferrooxidans*; structural model; molecular docking; ribose-5-phosphate (R5P)

嗜酸氧化亚铁硫杆菌属革兰氏阴性化能自养细菌, 它在矿物加工工业中被用于从各种硫化矿物中提取有价金属, 如铜, 铅, 锌, 铀, 金和镍等^[1], 是应用最广泛的细菌之一。它所生存的环境极端酸性和有毒性^[2]。人们可能十分惊奇, 生命如何能

在这种极端环境中存在。事实上, 生命不仅能在这种有毒的环境中生存^[3-4], 而且能够利用这种条件, 通过氧化亚铁离子和还原态硫化物获取生长所需要的能量, 还能把那些不溶性的硫化物转变成可溶性的硫酸盐^[5]。该特性常被工业上利用来从矿

* 收稿日期: 2009-05-30

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (B10819)

作者简介: 陈锋菊 (1973年生), 女, 硕士; E-mail: chenfengju526@163.com

石中提取金属。与此同时,它还能通过固定大气中的二氧化碳为其自身细胞提供碳源^[6],其二氧化碳的利用可能限制细菌的生长并进而影响生物浸出操作的效率。因此,研究该生物的二氧化碳固定系统在基础和应用等方面具有十分重要的意义。

核糖-5-磷酸异构酶(RpiA)是一个在戊糖途径和二氧化碳固定的开尔文循环中必需的酶^[7],它催化核糖-5-磷酸(R5P)转变成核酮糖-5-磷酸^[8]。至少60个物种中的RpiA已被测序,大量的生物包括大肠杆菌和菠菜的RpiA已被克隆^[9-10]。在结构方面,大肠杆菌中的15 nm精度结构和带抑制剂的12.5 nm精度结构以及*Vibrio vulnificus* YJ106中带抑制剂和底物的RpiA的20 nm晶体结构均已被X射线解析^[11-12]。

嗜酸氧化亚铁硫杆菌 ATCC 23270 菌株的基因组序列中包含一个 *rpiA* 基因,它可能编码 RpiA,从而在其二氧化碳固定中发挥重要作用。但到目前为止,关于此细菌中 *rpiA* 基因编码的蛋白质的实验和理论研究工作还未见报道,其三维结构仍待解析。此外,直接获取酶与底物复合物的结构信息存在困难,因底物与酶反应瞬间可得产物,而结构解析如 X 射线晶体学通常需要好几个小时。有文献报道,基于计算机计算的同源建模和分子对接是蛋白质三维结构构建和考察底物和酶相互作用的有效方法^[13]。关于 RpiA 的详细三维结构,它和底物相互作用信息和据此识别的关键残基,对指导定点突变实验和理解它在这个具有独特生理的细菌中的催化机理和功能,都是极其必需的。

本研究中,通过同源建模技术和分子动力学模拟,一个来自嗜酸氧化亚铁硫杆菌的 RpiA 蛋白质(afRpiA,被此 *rpiA* 基因所编码)的完整三维分子结构被构建、优化和测评。获得的结构被进一步用于搜索绑定位点,跟底物核糖-5-磷酸(R5P)进行柔性分子对接,并据此侦识其关键残基。

1 计算与方法

蛋白 afRpiA 的初始氨基酸序列来源于基因组研究协会的嗜酸氧化亚铁硫杆菌 ATCC 23270 菌株的基因组序列。所有的模拟工作通过由 Accelrys 公司开发的 Insight II 软件包来完成^[14],此软件包运行于装有红帽 Linux 操作系统的戴尔 Precision 470 工作站上。

1.1 三维分子模型构建

蛋白质 afRpiA 的初始分子结构模型通过 Homology 模块建立^[15]。首先,通过序列相似性搜索

程序 BLAST 从蛋白质数据银行(PDB)寻找相关的蛋白质模板。然后,用 Modeler 程序构建 afRpiA 的初始三维分子结构。

分子结构模型的优化通过 Discover_3 模块来完成。在此过程中,一个以模建的 afRpiA 分子结构模型的质量中心为半径再包裹一层 2 nm 厚水分子的显式溶剂模型被采用。首先,对此全结构模型进行 800 步共轭梯度最小化;然后,运行 120 ps 的 298 K 常温分子动力学模拟;最后,一个共轭梯度能量最小化被执行直到均方根梯度能低于 42 λ /cm。模拟中选用一致价键力场(CVFF),最终的分子结构模型通过 Profile-3D 和 ProStat 程序来评测^[16-17]。

1.2 绑定位点分析

为了考察蛋白 afRpiA 和底物 R5P 的相互作用,绑定口袋定义包含距离 0.6 nm 的所有残基。通过使用 Binding-Sites 模块来定位孔洞的方法找出所有可能的绑定口袋。然后结合搜索信息以及 RpiA 家族的保守残基和别的 afRpiA 类似物的试验结果来预测 afRpiA 对 R5P 的绑定位点。分析结果用于指导后面的分子对接实验。

1.3 把辅因子和底物对接入绑定口袋

底物 R5P 的三维结构通过 Builder 程序来建立,它的几何进一步通过 Discover_3 程序来优化。为了探寻蛋白 afRpiA 和底物 R5P 之间的相互作用模式,通过 Affinity 程序对它们进行自动分子对接。

首先,在上面识别位点的指导下,把底物 R5P 对接入 afRpiA 的绑定口袋中。在此过程中,基于整体复合物的能量通过 Affinity 程序自动找到配体和受体的最好绑定结构。复合物的势能函数通过使用 CVFF 力场来赋值,单胞多极方法被用于处理非键相互作用。为了考虑溶剂效果,将配体-酶复合物浸入一个以它们为中心的半径为 3 nm 的水球中。最后,根据相互作用能结合几何匹配质量的标准来选取酶和底物的对接复合物。

2 结果与讨论

2.1 嗜酸氧化亚铁硫杆菌的 RpiA 的结构建模

蛋白 afRpiA 搜索 PDB 数据库的结果表明,一个来自大肠杆菌 RpiA 的晶体结构(PDB 代号为 1KS2)的序列跟它有较好的序列一致性(57.34%)^[11],因此 1KS2 被选择作为模板构建 afRpiA 蛋白的三维结构。基于 1KS2 的结构,通过同源建模过程,获得了 afRpiA 的初始结构。目标蛋白和模板蛋白的序列比对如图 1 所示。

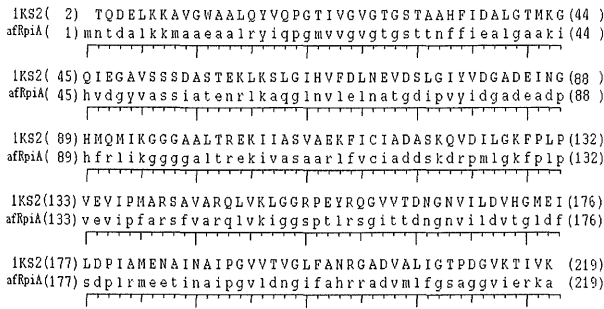


图 1 afRpiA 跟 1KS2 的序列比对

Fig. 1 Sequence alignment of afRpiA and 1KS2

这个初始结构被进一步优化。在分子动力学模拟过程中，势能在最初的 50 ps 内迅速下降，然后以两步间较低的偏离下降，在 60 ps 时动力学模拟趋于平衡（图 2）。因此，选取 120 ps 的分子构型去进一步优化作为最终三维分子结构。

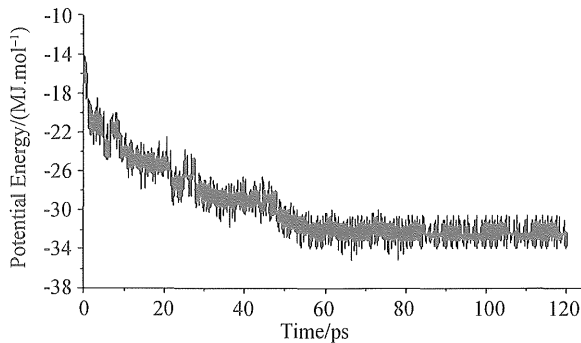


图 2 120 ps 内 afRpiA 的分子动力学的总势能变化
(总势能是 0.1 ps 间隔内的平均)

Fig. 2 The change of total potential energy of afRpiA's molecular dynamics during 120 picosecond
(The total potential energy is the average of intervals of 0.1 picosecond)

当最终的结构通过 ProStat 程序来评测时，模型中 89.3% 的骨架 $\Phi - \Psi$ 角落在 Ramachandran 核心区，而对比于 1P3W，骨架 $\Phi - \Psi$ 角的百分比是 86.5%；当用于表明显著性差异的截断值取相当于参考值 6 个标准方差时，模建蛋白中没有显著差异的结构特征被观察到。当用 Profile-3D 评测此蛋白时，其自兼容分数为 94.83，高于 Profile-3D 最低评分数 (44.73)，接近于 Profile-3D 最高评分数 (99.40)，模建结构中的每个残基的兼容性分数均大于 0，对应于可接受的侧链环境。Profile-3D 和 ProStat 的评测结果表明，蛋白 afRpiA 的模建结构是可靠的。

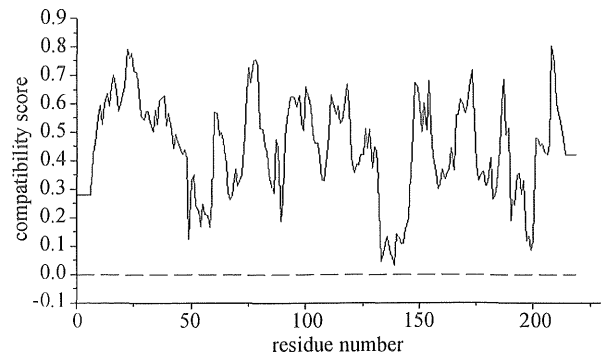


图 3 模型 afRpiA 的 Profile-3D 检测结果
(有正的兼容性分数的残基表明其被合理折叠)

Fig. 3 The test results of model afRpiA by Profile-3D
(the residues with positive compatibility score demonstrated the reasonable folding)

来自极端微生物 *A. ferrooxidans* ATCC 23270 的 RpiA 蛋白单聚体由 219 个氨基酸组成，计算的相对分子质量为 23.38×10^3 。模建的单聚体 afRpiA 包含 3 个 β 折叠片层，上面又堆积了 6 个 α 螺旋（图 4）。这与 Kim 等^[12]研究得到的 *Vibrio vulnificus* YJ106 的 RpiA 单聚体的结构一致。右片层包含 6 个平行 β 折叠条带，第 7 个条带反平行存在；开始的 4 个条带起于一个 Rossmann 折叠的典型模式，此片层最终被序列中的 2 个条带所结束，3 个 α 螺旋从溶剂中掩埋了片层的凹面。中间的片层在结构中作为一个中心，由 4 个安排进一个混合片层的条带组成。一个 α 螺旋被插进右片层和中间片层之间。左片层由 4 个反平行条带组成，带有 2 个 α 螺旋保护它的外表面。整个结构能被划分为一个小结

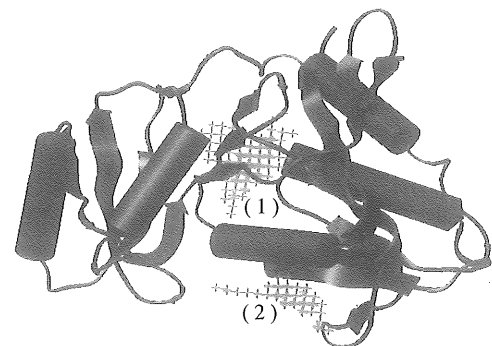


图 4 afRpiA 的最终三维结构和可能的结合位点
(可能的结合口袋通过在其所在空间填以交叉线来表示并分别标注数字 1 和 2)

Fig. 4 The finally three-dimensional structure and possible binding sites of afRpiA
(the possible binding pocket was expressed by filling cross-line in the space and marked by 1 and 2 respectively)

构域和一个大结构域。小结构域由 N 端 1 - 67 残基组成, 大结构域包含残基 68 - 219。此蛋白的整体结构有着 RpiA 蛋白的典型特征。

2.2 识别 R5P 的绑定区域

来自 E. coli 的 RpiA 蛋白有一个底物绑定口袋, 此口袋涉及底物催化[11]。在口袋中, 存在一些至关重要的残基: Asp81, 通过从羟基的氧原子上接受一个质子而起开环作用; Glu103, 是一个必需的催化碱基; Lys94, 帮助稳定底物中间物; Lys7, Ser30, Thr31 和 Lys121, 在锚定 R5P 的磷酸基中发挥重要作用。这些来自 E. coli 的 RpiA 蛋白的残基分别对应于 afRpiA 中的 Asp81, Glu103, Lys94, Lys7, Ser30, Thr31 和 Lys121 残基。A. ferrooxidans 和其它生物源的 RpiA 的序列比对 (图 5) 表明, 这些残基在来自其它各种生物源的 RpiA 中也高度保守。

Table with 2 columns: Species and Amino Acid Sequence. It shows partial sequence alignment for A. ferrooxidans and other sources' RpiA, with asterisks marking conserved residues.

图 5 A. ferrooxidans 和其它生物源的 RpiA 的部分序列比对

(在所有序列中都保守的残基标记 *; 只在部分序列中保守的残基视保守程度标记: or.)

Fig. 5 Partial sequence alignment of A. ferrooxidans and other sources' RpiA

(the conservative residues in all sequences were marked by *; those only in part sequences were marked by: or. by their conservative degree)

建模结构的绑定位点搜索结果显示 afRpiA 中有 2 个孔洞 (图 4)。有趣的是, 上面提到的保守残基位于位点 1 中。此外, afRpiA 和 1P3W 在序列和结构方面都很好地保守, 它们的生物功能也应一样。于是, 结合此搜索信息以及 RpiA 家族的保守残基和别的 afRpiA 类似物的试验结果, 位点 1 被选为对接底物 R5P 的最佳绑定位点。此位点由 16 个残基 (Thr28, Gly29, Ser30, Thr31, Thr32, Asp81, Gly82, Ala83, Asp84, Lys94, Gly95, Gly96, Gly97, Ala99, Glu103 和 Lys121) 组成。

2.3 afRpiA 和 R5P 的相互作用

核糖 - 5 - 磷酸天然存在线性醛酐型式 (开链) 或呋喃糖型式 (五元环)。开链型式在溶液中相当稀少, 异构需要开链型式的糖。有动力学证据表明 RpiA 必须绑定到一个或更多的呋喃糖型式, 此呋喃糖型式的环在原位表达中被提出是打开的, 这可能是在提供催化支持的酶的帮助下实现的[9-10]。本研究中的底物对接主要针对呋喃型式 R5P 和 RpiA 的米氏复合物的形成。R5P-RpiA 复合物的三维绑定构型见图 6 (a)。图 6 (a) 显示, R5P 被锚定在绑定口袋中心。

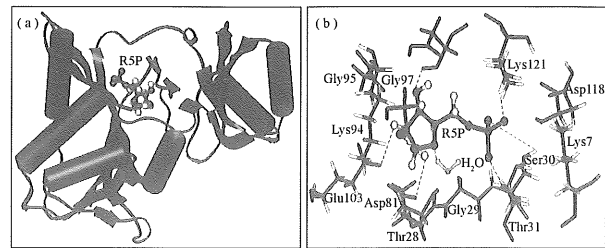


图 6 R5P - afRpiA 复合物的分子对接及氢键相互作用

Fig. 6 Molecular docking of R5P - afRpiA Complex and their hydrogen bond interaction

(a) R5P-afRpiA 复合物的三维分子对接结构; (b) R5P 和 afRpiA 的氢键相互作用 (氢键用虚线表示)

(a) Three-dimensional structure of molecular docking of R5P-afRpiA Complex; (b) The hydrogen bond interaction of R5P and afRpiA (Hydrogen bond expressed with dotted line)

众所周知, 氢键在生物分子的结构和功能中发挥重要作用, 特别在酶的催化和底物绑定中。图 6 (b) 和表 1 显示, afRpiA 和 R5P 之间形成了 7 个氢键。3 个氢键被形成于 R5P 的磷酸基的氧原子和残基 Thr31, Ser30 和 Lys121 的侧链之间。另 3 个氢

表 1 R5P 和 RpiA 绑定位点残基间的氢键

Table 1 The hydrogen bonds of R5P and RpiA's residues binding sites

Table with 5 columns: afRpiA Residue, afRpiA Atom, R5P Group, R5P Atom, Distance (nm), Angle (degrees). It lists 7 hydrogen bonds between R5P and RpiA residues.

键产生于 R5P 的 C1 - 羟基的氢原子和 Asp81, R5P 的 C2 氢原子和 Glu103, R5P 的 C3 - 羟基的氧原子和 Asp84 之间。此外, 还有 1 个氢键位于环氧原子和水分子之间。这些氢键相互作用加强了底物-酶复合物的稳定性。

为确定组成模型绑定口袋的关键残基, 计算了 R5P 跟酶中的每个单独氨基酸的相互作用能。通过 R5P 跟 afRpiA 中每个氨基酸残基的总相互作用能来识别模型中的显著绑定位点残基, 并通过相互作用能的排序来推测每个残基的相对重要性。与基于跟底物距离的识别方法相比, 此方法能清楚地显示每个残基的相对重要性。

由表 2 可知, 底物 R5P 跟 afRpiA 具有一个非常适合的相互作用能。其中, 静电能, 范德华力能

表 2 R5P 跟单独残基间的静电能 (E_{ele}), 范德华力能 (E_{vdw}) 和总能 (E_{total}) ($|E_{total}| > 0.6000 \text{ kJ mol}^{-1}$ 的残基按能量大小列出)

Table 2 The electrostatic energy (E_{ele}), the Van der Waals force and energy (E_{vdw}) and the total energy (E_{total}) (the residues of $|E_{total}|$ over $0.6000 \text{ kJ mol}^{-1}$ are listed by their energy size)

残基	静电能 / ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	范德华力能 / ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	总能 / ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
Total	-55.294 4	-39.758 2	-95.052 6
Asp81	-9.336 6	-6.560 4	-15.897 0
Thr31	-3.246 6	-2.965 2	-6.211 8
Lys121	-3.931 2	-1.671 6	-5.602 8
Ser30	-2.788 8	-2.709 0	-5.497 8
Glu103	-3.796 8	-1.528 8	-5.325 6
Asp84	-3.830 4	-1.491 0	-5.321 4
Lys94	-3.750 6	-1.142 4	-4.893 0
Asp118	-3.868 2	-1.016 4	-4.884 6
Lys7	-3.582 6	-1.142 4	-4.725 0
H ₂ O	-2.734 2	-1.978 2	-4.712 4
Gly97	-1.369 2	-2.658 6	-4.027 8
Gly29	-1.768 2	-2.247 0	-4.015 2
Gly95	-1.759 8	-2.234 4	-3.994 2
Thr28	-1.331 4	-2.650 2	-3.981 6
Ala83	-1.054 2	-1.079 4	-2.133 6
Ala99	-0.571 2	-1.306 2	-1.877 4
Thr32	-0.575 4	-1.268 4	-1.843 8
Gly98	-1.142 4	-0.642 6	-1.785 0
Ile93	-0.697 2	-0.344 4	-1.041 6
Leu100	-0.365 4	-0.562 8	-0.928 2
Gly82	-0.348 6	-0.411 6	-0.760 2
Glu85	-0.445 5	-0.154 8	-0.600 3

和总相互作用能分别是 $-55.294 4$, $-39.758 2$ 和 $-95.052 6 \text{ kJ/mol}$ 。相互作用能仅仅对应于绑定自由能的焓贡献。结果表明, 在这种情况下, 静电能和范德华力对决定底物的绑定取向很重要, 巨大的吸附相互作用能对有效地招募底物 R5P 很有帮助。残基 Asp81 和 R5P 之间的总相互作用能 (E_{total}) 是 $-15.897 0 \text{ kJ/mol}$, 其中主要的相互作用能是静电能 ($E_{ele} = -9.336 6 \text{ kJ/mol}$)。残基 Lys121, Glu103, Asp84, Lys94, Asp118, Lys7 和 H₂O 具有跟 Asp81 类似的行为, 与 R5P 的主要相互作用能也是静电能; 残基 Gly97, Thr28 与 R5P 的相互作用能主要是范德华力能; 残基 Thr31, Ser30, Gly29 和 Gly95 跟 R5P 的相互作用能中, 范德华力能和静电能大体相当。通过相互作用能分析, 残基 Asp81, Thr31, Lys121, Ser30, Glu103, Asp84, Lys94, Asp118, Lys7, Gly97, Gly29, Gly95, Thr28 和 H₂O 与 R5P 的总相互作用能对比于其它残基较为突出, 因此这些残基可被推测为 R5P 的重要锚定残基, 并对底物的相互作用具有重要贡献。显然, 基于总相互作用能和/或氢键固定, 残基 Asp81, Thr31, Lys121, Ser30, Glu103, Asp84, Lys94, Asp118 和 Lys7 的结果跟大肠杆菌中的 RpiA 的实验事实十分一致。但是根据相互作用能, Gly97, Gly29, Gly95 和 Thr28 是新识别的重要残基, 它们在来自其他各种生物体的 RpiA 中恰好保守 (图 5), 但以前一直没被发现过。

在底物反应的初始步 (图 7), 呋喃糖型式的 R5P 进入活性口袋形成米氏复合物。然后, Asp81 通过从 R5P 中的 C1 - 羟基的氧原子接受一个质子进行开环。这一步最有可能的质子供体是水, 在 O4 的适当面十分有利于接触溶剂, 一旦环被打开, 磷酸可能仍然留在相同的位置, 在 O4 中找到的羟基将会找到一个好的机会跟残基 28 主链上的羰基氧形成氢键。底物靠近 O1 和 O2 的部分, 则必须重新进行轻微的调整以适应此化学改变。突变结果

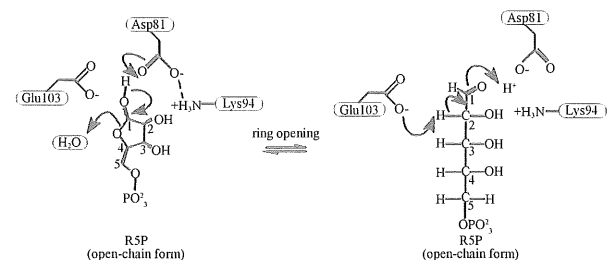


图 7 底物反应的初始步骤

Fig. 7 The initial step of substrate reaction

和位置表明, Glu103 将是必需的催化碱基, Asp81 将在下一步催化中把它的质子返回给底物, Lys94 正好位于帮助稳定中间物的位置。上面的对接结果表明, 水分子和 Asp81 非常靠近 R5P, 并跟它有较强的氢键固定和非常大的相互作用能 (图 6、表 1 和表 2), 它们跟底物反应机理的初始过程十分一致 (图 7)。

3 结 论

1) 嗜酸氧化亚铁硫杆菌的 *rpiA* 基因编码的蛋白质的可靠三维分子结构模型被构建。由模建的结构和跟 R5P 相互作用的信息, 可在三维空间层次确认此基因编码了 RpiA。

2) 通过与底物的分子对接, R5P 能被有效地招募到 *A. ferrooxidans* 的 RpiA 的活性位点中并随后被激活。残基 Asp81, Thr31, Lys121, Ser30, Glu103, Asp84, Lys94, Asp118, Lys7, Gly97, Gly29, Gly95, Thr28 和 H₂O 对此蛋白的底物绑定或催化起着重要作用。

参考文献:

- [1] RAWLINGS D E, KUSANO T. Molecular genetics of *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Microbiological Reviews, 1994, 58(1): 39 - 55.
- [2] BAKER B J, BANFIELD J F. Microbial communities in acid mine drainage [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 44(2): 139 - 152.
- [3] TUOVINEN O H, NIEMELA S I, GYLLENBERG H G. Tolerance of *Thiobacillus ferrooxidans* to some metals [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1971, 37(4): 489 - 496.
- [4] BANERJEE P C. Genetics of metal resistance in acidophilic prokaryotes of acidic mine environments [J]. Indian journal of Experimental Biology, 2004, 42(1): 9 - 25.
- [5] QUATRINI R, APPIA A C, DENIS Y, et al. Insights into the iron and sulfur energetic metabolism of *Acidithiobacillus ferrooxidans* by microarray transcriptome profiling [J]. Hydrometallurgy, 2006, 83(1/4): 263 - 272.
- [6] APPIA A C, QUATRINI R, DENIS Y, et al. Microarray and bioinformatic analyses suggest models for carbon metabolism in the autotroph *Acidithiobacillus ferrooxidans* [J]. Hydrometallurgy. 2006, 83(1/4): 273 - 280.
- [7] ROSA L. Interaction between exogenous ribose 5-phosphate and the Benson-Calvin cycle in intact spinach chloroplasts [J]. Plant Science Letters, 1979, 16(2/3): 211 - 218.
- [8] ANDERSON L E. Ribose-5-phosphate isomerase and ribulose-5-phosphate kinase show apparent specificity for a specific ribulose 5-phosphate species [J]. FEBS Letters, 1987, 212(1/9): 45 - 48.
- [9] SORENSEN K I, HOVE J B. Ribose catabolism of *Escherichia coli*: characterization of the *rpiB* gene encoding ribose phosphate isomerase B and of the *rpiR* gene, which is involved in regulation of *rpiB* expression [J]. Journal of Bacteriology, 1996, 178(4): 1003 - 1011.
- [10] JUNG C H, HARTMAN F C, LU T Y, et al. D-Ribose-5-phosphate isomerase from spinach: heterologous overexpression, purification, characterization, and site-directed mutagenesis of the recombinant enzyme [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2000, 73(2): 409 - 417.
- [11] ZHANG R, ANDERSON C E, SAVCHENKO A, et al. Structure of *Escherichia coli* Ribose-5-phosphate Isomerase: a ubiquitous enzyme of the pentose phosphate pathway and the Calvin cycle [J]. Structure, 2003, 11(1): 31 - 42.
- [12] KIM T G, KWON T H, MIN K, et al. Crystal Structures of Substrate and Inhibitor Complexes of Ribose 5-Phosphate Isomerase A from *Vibrio vulnificus* YJ016 [J]. Mol Cells, 2009, 27(1): 99 - 103.
- [13] EISENHABER F, PERSSON B, ARGOS P. Protein structure prediction: recognition of primary, secondary, and tertiary structural features from amino acid sequence [J]. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 1995, 30(1): 1 - 94.
- [14] INSIGHT II, version 2005 [CP]. San Diego: Accelrys Inc, 2005.
- [15] BLUNDELL T L, SIBANDA B L, STERNBERG M J E, et al. Knowledge-based prediction of protein structures and the design of novel molecules [J]. Nature, 1987, 326(6111): 347 - 352.
- [16] LUTHY R, BOWIE J U, EISENBERG D. Assessment of protein models with three-dimensional profiles [J]. Nature, 1992, 356(6364): 83 - 85.
- [17] MORRIS A L, MACATHUR M W, HUTCHINSON E G, et al. Stereochemical quality of protein structure coordinates [J]. Proteins, 1992, 12(4): 345 - 364.