

陶 隽, 贾 青, 魏星灿, 等. 猪 *ACACA* 基因及其编码蛋白质的生物信息学分析[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 42–45.

猪 *ACACA* 基因及其编码蛋白质的生物信息学分析

陶 隽¹, 贾 青^{1,2}, 魏星灿¹, 胡慧艳¹, 邢增喜¹

(1. 河北农业大学动物科技学院, 河北保定 071001; 2. 国家北方山区农业工程技术研究中心, 河北保定 071001)

摘要: 为从分子水平研究猪脂肪合成过程, 对脂肪合成关键酶乙酰辅酶 A 羧化酶- α 基因(*ACACA*)进行分析。采用生物信息学的方法, 查找猪 *ACACA* 基因的 ORF 框, 对基因 CDS 序列的限制性酶切位点进行分析, 并对其编码蛋白质的理化性质、二级结构、三级结构、拓扑结构、结构功能域进行预测分析。结果表明, 猪 *ACACA* 基因 CDS 区全长 7 041 bp, 其编码蛋白质含 2 346 个氨基酸。二级结构以 α 螺旋与无规则卷曲为主, 局部出现 β 转角, 三级结构显示结果与二级结构预测结果相符。该蛋白质为亲水性蛋白质, N 端无信号肽, 为非分泌蛋白质; 不含跨膜结构区, 未定位于膜内, 预测其为膜外区蛋白质; 亚细胞定位结果显示该蛋白质为非细胞器蛋白质, 是胞质蛋白质的可能性最大; 功能域分析发现该蛋白质序列含有 BC 结构域、CT 结构域、CPSase 大亚基 N 端结构域、ATP-grasp 折叠结构域、生物素基/硫辛酰基结合域等及一些蛋白质基序。该结果将为进一步研究猪 *ACACA* 基因与脂肪合成的关系提供基础资料。

关键词: 猪; *ACACA* 基因; 蛋白质; 生物信息学

中图分类号: Q753 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)05-0042-04

乙酰辅酶 A 羧化酶 (Acetyl-coenzyme A carboxylase, ACC) 属于分子间羧化转移家族成员, 在脂肪酸代谢过程中起着重要作用。现已确认, 在人和哺乳动物中存在两种形式的 ACC: 由 *ACACA* 基因编码的 ACC- α (ACC-1) 和由 *ACACB* 基因编码的 ACC- β (ACC-2)。前者作为调节长链脂肪酸合成的限速酶, 主要存在于脂肪酸生成活跃的组织 (如肝脏、脂肪组织和乳腺), 催化乙酰辅酶 A 转化成脂肪酸合成起始物丙二酸单酰辅酶 A, 它是调节脂肪酸合成的关键酶^[1-2]。除了在脂肪酸合成过程中发挥重要作用外, Galdieri 等研究发现, ACC- α 表达量的减少会增加染色质组蛋白质的乙酰化以及改变其转录调控^[3]。Cody 等研究发现, ACC- α 是人类巨细胞病毒 (HCMV) 的靶位点, HCMV 感染可增加 *ACACA* 在 mRNA 水平和蛋白水平的表达丰度, 用 RNAi 或抑制剂抑制 ACC- α , 会使 HCMV 的复制能力减弱^[4]。

目前, *ACACA* 基因在植物、微生物、小鼠中报道较多, 但是家畜中该基因的研究报道较少。本研究通过分子生物信息

学的方法, 分析猪 *ACACA* 基因的一般特征, 预测其编码的蛋白质二级、三级结构, 并进行蛋白质的拓扑结构, 及其结构功能域的预测, 旨在为进一步开展猪脂肪合成过程的相关研究提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

从 NCBI 数据库下载猪乙酰辅酶 A 羧化酶基因 (*ACACA*) 核苷酸序列, 登录号为 NM_001114269.1。

1.2 方法

1.2.1 开放阅读框查找及限制性酶切位点分析 利用 NCBI 网站的 ORF Finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 工具查找猪 *ACACA* 基因的开放阅读框 (open reading frame, ORF); 利用 Restriction Mapper (<http://www.restriction-mapper.org/>) 程序对 *ACACA* 基因 CDS 序列进行内切酶图谱分析。

1.2.2 *ACACA* 基因编码蛋白质的一级结构分析 利用 ExPASy 网站的 ProtParam (<http://expasy.org/tools/protparam.html>) 工具分析基因编码蛋白质的氨基酸残基性质、分子量及理论等电点等信息; 利用 ExPASy 中的 ProtScale 工具 (<http://web.expasy.org/protscale/>) 对该蛋白质的亲水性和疏水性进行预测; 采用 Hphob./Kyte & Doolittle 算法预测氨基酸序列的

收稿日期: 2013-09-09

基金项目: 河北省现代农业产业技术体系创新团队建设专项资金。

作者简介: 陶 隽 (1989—), 女, 甘肃民勤人, 硕士, 主要从事动物遗传学研究。E-mail: taojun0703@163.com。

通信作者: 贾 青, 教授, 博士生导师。E-mail: jiaqing@hebau.edu.cn。

[14] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytochem Bull, 1987, 19: 11–15.

[15] Sang Y J, Bean S, Seib P A, et al. Structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(15): 6680–6685.

[16] Han X Z, Campanella O H, Guan H, et al. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part II. Dynamic measurements of viscoelastic properties of starch pastes [J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 49(3): 323–330.

[17] Pedersen J F, Graybosch R A, Funnell D L. Occurrence of the *Waxy* alleles *wx^a* and *wx^b* in *Waxy* sorghum plant introductions and their effect on starch thermal properties [J]. Crop Science, 2007, 47: 1927–1933.

[18] Rooney L W, Pflugfelder R L. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn [J]. Journal of Animal Science, 1986, 63(5): 1607–1623.

[19] Wong J H, Lau T, Cai N, et al. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm [J]. Journal of Cereal Science, 2009, 49(1): 73–82.

疏水性/亲水性。

1.2.3 ACACA 基因编码蛋白的二级结构分析 利用 ExPASy 网站的 SOPMA 工具,对 ACACA 基因编码蛋白的氨基酸序列进行二级结构预测(http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)。

1.2.4 ACACA 基因编码蛋白质三级结构预测 利用 ExPASy 网站的 CPHmodels 3.2 Server 软件预测 ACACA 基因编码蛋白质的三级结构(<http://www.cbs.dtu.dk/services/CPHmodels/>),并用 PyMOL 蛋白结构显示软件显示所得三级结构。

1.2.5 ACACA 基因编码蛋白质的功能预测 利用 SignalP 程序(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)预测猪 ACACA 基因编码蛋白质的信号肽。SignalP 是一个信号肽及其剪切位点的预测工具,它采用一个神经网络来区分信号肽和非信号肽,另一个神经网络来识别剪切位点^[5]。用 ExPasy 站点上的 TMPred(http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html)和 TMHMM 软件(<http://www.cbs.dtu.dk/serv->

ices/TMHMM/)预测猪 ACACA 基因编码蛋白质的跨膜结构;用 WoLFPSort 和 Psort II 对 ACACA 基因编码蛋白质的亚细胞定位进行分析。

1.2.6 ACACA 基因编码蛋白质结构域预测 使用 InterPro 工具(<http://www.ebi.ac.uk/interpro/>)对 ACACA 基因编码蛋白质的结构域进行预测。

2 结果与分析

2.1 ACACA 基因 ORF 查找

分析结果显示,ACACA 基因完整的 ORF 位于 61 ~ 7 101 bp 区域,共 7 041 bp,编码 2 346 个氨基酸。

2.2 ACACA 基因酶切位点分析

对 ACACA 基因 CDS 序列分析发现,该序列共有 136 种限制性酶切位点,并得出相应剪切位点的名称、序列、位点长度。表 1 列出部分酶切位点信息。

表 1 猪 ACACA 基因部分酶切位点

位点	序列	位点长度(bp)	频数(次)	酶切位点
BsaB I	GATNNNNATC	6	1	2 198
Eco47 III	AGCGCT	6	1	3 446
Psi I	TTATAA	6	1	5 432
Aar I	CACCTGC	7	1	1 182
Afl II	CTTAAG	6	1	3 511
Taq II	GACCGA	6	6	258,284,4 391,4 417,6 707,6 733
SfaN I	GCATC	5	16	389,686,742,1 158,1 449,1 949,2 213,2 909,2 942,4 190,5 138,5 147,5 621,5 798,6 398,6 575
Tst I	CAC- NNNNNTTC	6	16	211,243,771,803,1 518,1 550,1 666,1 698,2 300,2 332,3 546,3 578,5 772,5 804,5 930,5 962
Eco II	CCWGG	5	33	104,534,701,845,1 283,1 450,1 684,2 430,2 567,3 245,3 425,3 841,3 986,4 115,4 526,4 651,4 763,4 953,5 078,5 116,5 209,5 332,5 453,5 516,5 896,6 008,6 044,6 274,6 614,6 677,6 731,6 806,6 923

2.3 ACACA 基因编码蛋白质的一级结构分析

猪 ACACA 基因编码蛋白质的各种理化性质的分析结果显示,该蛋白分子式为:C_{11 821}H_{18 589}N_{3 247}O_{3 482}S₁₀₆,分子质量为 2 653.066,理论等电点为 6.0。序列含有 20 种基本氨基酸,其中亮氨酸含量最高,为 9.3%,含量最低为半胱氨酸和色氨酸,含量均为 1.2%。序列中含有带负电的残基(Asp + Glu) 290 个,含有带正电的残基(Arg + Lys) 254 个。在体外环境下,该蛋白质的半衰期为 30 h,不稳定指数为 40.81,将此蛋白划分为不稳定蛋白质。溶脂指数为 89.81。该蛋白质平均亲水指数(grand average of hydropathicity, GRAVY)为

-0.239,其可能为一个亲水性蛋白。

2.4 ACACA 基因编码蛋白质的二级结构分析

ACACA 基因编码蛋白质的二级结构预测结果如图 1 所示。图中竖线由长至短依次表示:α 螺旋、延伸链、β 转角、无规则卷曲。结果表明,ACACA 基因编码的氨基酸序列由 41.99% 的 α 螺旋(alpha helix)、34.61% 的无规卷曲(random coil)、16.84% 的延伸链(extended strand)、6.56% 的 β 转角(beta turn)构成。可见 α-螺旋、无规则卷曲和延伸链是该蛋白二级结构的主要元件,β 转角只在局部出现。

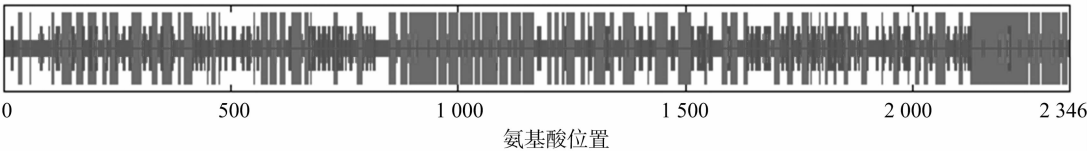


图 1 猪 ACACA 基因编码蛋白二级结构柱状图

2.5 ACACA 基因编码蛋白质三级结构预测

猪 ACACA 基因编码蛋白质三级结构预测结果如图 2 所示,该蛋白主要由 α 螺旋,无规则卷曲和 β 折叠构成。与二级结构预测结果基本一致。

2.6 ACACA 基因编码蛋白质的亲水性、疏水性

图 3 显示正值区域的氨基酸分值多在 0 至 0.5 之间,而负值区域的氨基酸分值多在 0 至 1 之间,且分值为负的氨基酸显著多于分值为正的氨基酸。预测结果中正值越大表示越

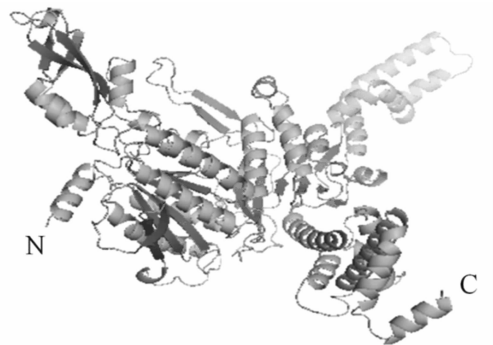


图2 ACACA 基因编码蛋白质三级结构预测

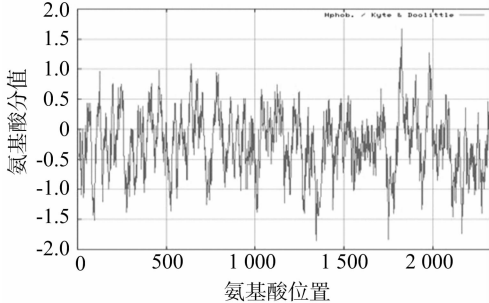


图3 猪ACACA 基因编码蛋白质疏水性预测

疏水,负值越大表示越亲水。整体来看,亲水性氨基酸均匀分布于整个多肽链中,没有明显的疏水区域,可认为 ACACA 基因编码的蛋白质为亲水蛋白质。

2.7 ACACA 基因编码蛋白质的信号肽预测

C 是信号肽酶切位点分值,S 是信号肽分值,Y 是由 C 值和 S 值综合得出的剪切位点分值,用于更精确地确定信号肽酶切位点。由预测结果可知,C、Y、S 最大值分别为 0.109、0.108、0.114,均小于分界值 0.45。同时,整条序列所有分值均较低,无明显较高的 C 值,无较大的 S、Y 值。结果表明该蛋白质不含信号肽段,故该蛋白质为非分泌蛋白。

2.8 ACACA 基因编码蛋白质跨膜区结构预测

TMPred 对跨膜区结构预测,发现两种可能的跨膜模式,一种跨膜模式显示该蛋白质存在 2 个跨膜区:第 244 至 262 位氨基酸,肽链方向为由膜内伸向膜外;第 1 814 至 1 832 位氨基酸,肽链方向为由膜外伸向膜内。另一种跨膜模式显示该蛋白质仅存在第 1 814 位至 1 832 位氨基酸 1 个跨膜区。

TMHMM Server v. 2.0 的预测结果显示,该蛋白质的跨膜螺旋旋数量 (Number of predicted TMHs) 为 0;在预测的跨膜螺旋旋区所含的氨基酸数量 (Exp number of AAs in TMHs) 为 0;1 ~ 2 346 位氨基酸全部为膜外蛋白,非膜内蛋白,无跨膜结构。从所预测序列的概率图 (图 4) 可知,该蛋白质不在膜上的概率为 1,在膜内的概率为 0。大约在 1 800 位氨基酸的位置,存在一段很小的红色跨膜区域,这与 TMPred 预测的跨膜区位置相符,但概率太低,故综合认为该蛋白质不是跨膜蛋白质。

2.9 ACACA 基因编码蛋白质亚细胞定位的预测

两种软件的预测结果表明,该蛋白主要位于细胞质和细胞核中,位于线粒体、细胞膜或作为细胞骨架的可能性较小。综合两种分析结果认为该基因编码的蛋白质可能主要在胞质中发挥作用。

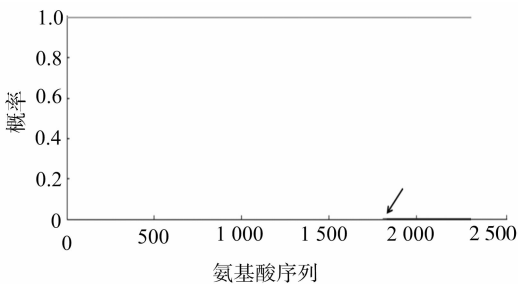


图4 猪ACACA 基因编码蛋白跨膜区预测

2.10 ACACA 基因编码蛋白质结构域和功能位点预测

预测结果 (表 2) 表明,该蛋白质含有生物素羧化作用域、乙酰 - CoA 羧化酶中心域、羧基转移酶结构域、氨甲酰磷酸合成酶大亚基 N 端域、生物素/硫辛酰基附着域、ATP 结合域等以及 2 个混合型基序。

表 2 猪 ACACA 基因编码蛋白质结构域预测结果

序号	结构域或功能位点	氨基酸位置
1	ATP 连结域前结构域	73 ~ 240
2	生物素羧化作用域	117 ~ 618
3	生物素羧化酶 C 端域	508 ~ 614
4	氨甲酰磷酸合成酶大亚基,N 端域	118 ~ 237
5	类似氨甲酰磷酸合成酶大亚基,ATP 结合域	288 ~ 471
6	ATP 连结折叠域	275 ~ 466
7	ATP 连结折叠域亚域 1	291 ~ 351
8	ATP 连结折叠域亚域 2	353 ~ 618
9	原初单混合型基序	502 ~ 617
10	单混合型基序	745 ~ 822
11	生物素/硫辛酰基附着域	753 ~ 818
12	生物素结合位点	776 ~ 793
13	乙酰 CoA 羧化酶中心域	819 ~ 1 569
14	羧基转移酶结构域	1 669 ~ 2 222
15	羧基转移酶 N 端结构域	1 698 ~ 1 878
16	羧基转移酶 C 端结构域	1 879 ~ 2 194

3 讨论

本研究对猪 ACACA 基因进行生物信息学分析,确定其开放阅读框。开放阅读框 (open reading frame, ORF) 是指一组连续的含有三联密码子的能够被翻译成为多肽链的 DNA 序列,它由起始密码子开始,到终止密码子结束。有研究者调查了 699 种真核的 mRNA,发现极大部分 mRNA 的 5' 端第一个 AUG 是起始密码子,mRNA 的第一个 AUG 不是密码子的情况约占 5% ~ 10%^[6]。有研究结果表明,真核生物起始密码子 -3 位为嘌呤 (A 或 G),+4 位为 G,即 AUG 附近的核苷酸序列以 A/GNNAUGG 的利用率最高,而没有起始功能的 AUG 附近的核苷酸序列无此保守性。这即是所谓的“Kozak 序列”,在分析读码框时需要重点参考^[5]。对于真核生物而言,一条全长 cDNA 序列将只含有单一的开放阅读框,经分析,确定猪 ACACA 基因编码区位于 61 ~ 7 101 bp,全长 7 041 bp。在此基础上,对基因 CDS 区的限制性酶切位点进行查找,发现 136 种酶切位点,这将为基因克隆鉴定提供重要信息^[7]。

对该基因编码蛋白质进行生物信息学和理化性质分析结果显示,该蛋白质是由 20 种氨基酸组成的一种亲水性蛋白

质,其半衰期较短,为不稳定蛋白质。对其二级结构分析,发现该基因编码蛋白质二级结构以 α 螺旋和无规则卷曲为主,而无规则卷曲经常构成酶活性部位和特异功能部位^[8]。对该蛋白质拓扑结构分析显示,其总平均亲水指数 (GRAVY) 为 -0.239 ,推测其为亲水性蛋白质;而其不含信号肽段,故该蛋白质为非分泌蛋白质;在序列中未发现明显的跨膜区,故该蛋白质为非跨膜蛋白质,且其定位于膜内的概率几乎为 0,故认为该蛋白质是一种膜外区蛋白质。对其进行亚细胞定位预测发现,该蛋白质是细胞器蛋白质的可能性较低,是胞质蛋白质或核蛋白质的可能性较大。其他学者对绵羊该基因的预测发现,其编码蛋白质主要定位于细胞质与细胞核中,与本研究预测结果一致。有学者比较了绵羊、山羊、牛、人、大熊猫、狨猴、驴、小鼠和野猪中 *ACACA* 编码蛋白质的不稳定指数、脂溶性指数和总平均亲水指数,发现脂溶性指数都较高,总平均亲水指数的绝对值都较低,推测此蛋白质属于脂溶性蛋白质,易溶于非极性溶剂,除山羊的 *ACACA* 编码蛋白稳定外,其余物种的都不稳定^[9]。这与本研究对猪 *ACACA* 基因编码蛋白质的预测分析结果一致,推测该蛋白质具有保守性。

已有研究报道,在大多数哺乳动物中,乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 以生物素作为辅基,是一种多功能域的多肽链,包含生物素羧化酶 (BC) 功能域、生物素羧基载体蛋白 (BCCP) 功能域、羧基转移酶 (CT) 功能域^[1,10]。生物素依赖性羧化酶执行 2 步反应,首先连接在酶上的生物素在碳酸氢盐和 ATP 作用下被羧化,随后,临时连在生物素上的羧基很快被转移到它的底物受体。在所有生物素依赖性羧化酶中,BC 结构域执行第一步反应^[11],CT 结构域执行第二步反应,在 ACC 中其催化羧基从生物素转移到乙酰 - CoA^[12-13],即催化乙酰 - CoA 形成丙二酸单酰 - CoA^[8]。对 CT 晶体结构的研究结果显示每一个 CT 结构域分子由两个亚域 (N 端域和 C 端域) 构成,CoA 分子通常连在 N 端亚域上^[14]。在猪上,InterPro 预测发现,序列第 117 ~ 618 位具有生物素羧化功能域 (BC 域),第 1 669 ~ 2 222 位具有羧基转移酶功能域 (CT 域),其 N 端和 C 端域分别位于序列第 1 698 ~ 1 878 和 1 879 ~ 2 194 位。

预测发现,在序列第 753 ~ 818 位置具有生物素/硫辛酸附着域。生物素、硫辛酸作为蛋白辅酶因子,都是通过蛋白质上赖氨酸残基的 ϵ -氨基共价结合到酶上。ACC 以生物素作为辅基,生物素的羧基通过酰胺键与蛋白质的赖氨酸残基相连,形成生物胞素^[8,13,15-16]。预测结果显示,猪 *ACACA* 编码的该蛋白质中,生物素有可能结合在序列第 776 ~ 793 位。紧接其后的是乙酰辅酶 A 羧化酶中心域,二者的位置介于 BC 域和 CT 域之间。

预测发现,在 BC 结构域位置,含有 1 个 ATP-grasp 折叠 (第 275 ~ 466 位)。ATP-grasp 由 2 个 $\alpha\beta$ 亚域构成,ATP 分子连在两个亚域之间^[17]。由于 BC 结构域在执行功能时需要 ATP,ATP-grasp 折叠在该蛋白质中行使连接 ATP 的功能。另外,在 BC 结构域位置含有氨甲酰磷酸合酶 N 端域 (第 118 ~ 237 位)。氨甲酰磷酸合酶 (CPSase) 是由 1 个大亚基和 1 个小亚基组成的异质二聚体,在其大亚基上有 2 个相似的羧基磷酸化域,二者均含有 ATP 结合位点。其中 N 端羧基磷酸化域催化碳酸氢盐磷酸化,C 端域催化氨甲酰磷酸酯中间体

的磷酸化^[14]。在猪的 ACC- α 氨基酸序列中预测发现氨甲酰磷酸合成酶大亚基 N 端域,由此可以推测,在猪乙酰辅酶 A 羧化酶中,碳酸氢盐的磷酸化是由类似氨甲酰磷酸合酶 N 端域的结构催化完成的。

参考文献:

- [1] Zu X Y, Zhong J. Chemical genetics of acetyl - CoA carboxylases [J]. *Molecules*, 2013, 18: 1704 - 1719.
- [2] Kim K H. Regulation of mammalian acetyl - coenzyme A carboxylase [J]. *Annual Review of Nutrition*, 1997, 17: 77 - 99.
- [3] Galdieri L, Vancrual A. Acetyl - CoA carboxylase regulates global histone acetylation [J]. *Biological Chemistry*, 2012, 287 (28): 23865 - 23876.
- [4] Spencer C M, Schafer X L, Moorman N J, et al. Human cytomegalovirus induces the activity and expression of acetyl coenzyme A carboxylase, a fatty acid biosynthetic enzyme whose inhibition attenuates viral replication [J]. *Virology*, 2011, 85 (12): 5814 - 5824.
- [5] 张阳德. 生物信息学 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [6] 杨岐生. 分子生物学 [M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2004.
- [7] 李 峰, 蒋卫红, 尹志华, 等. 成人视网膜假定蛋白基因 ARHP 的克隆及生物信息学分析 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2003, 30 (6): 930 - 934.
- [8] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学: 下册 [M]. 北京, 高等教育出版社, 1980: 258 - 260.
- [9] 何会金, 臧荣鑫, 冉永峰, 等. 绵羊 ACCA 基因编码蛋白结构和功能的生物信息学分析 [J]. *西北民族大学学报: 自然科学版*, 2011, 32 (81): 55 - 61.
- [10] Zhang H L, Yang Z R, Shen Y, et al. Crystal structure of the carboxyltransferase domain of acetyl - coenzyme A carboxylase [J]. *Science*, 2003, 299 (5615): 2064 - 2067.
- [11] Jitrapakdee S, Wallace J C. The Biotin enzyme family: conserved structural motifs and domain rearrangements [J]. *Current Protein and Peptide Science*, 2003, 4: 217 - 229.
- [12] Attwood P V, Wallace J C. Chemical and catalytic mechanisms of carboxyl transfer reactions in biotin - dependent enzymes [J]. *Chemical Research*, 2002, 35 (2): 113 - 120.
- [13] Shenoy B C, Xie Y, Park V L, et al. The importance of methionine residues for the catalysis of the biotin enzyme, transcarboxylase [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267 (26): 18407 - 18412.
- [14] Stapleton M A, Javid - Majd F, Harmon M F, et al. Role of conserved residues within the carboxy phosphate domain of carbamoyl phosphate synthetase [J]. *Biochemistry*, 1996, 35 (45): 14352 - 14361.
- [15] Knowles J R. The mechanism of biotin - dependent enzymes [J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1989, 58: 195 - 221.
- [16] Samols D, Thornton C G, Murtif V L, et al. Evolutionary conservation among biotin enzymes [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1988, 263 (14): 6461 - 6464.
- [17] Fan C, Moews P C, Shi Y, et al. A common fold for peptide synthetases cleaving ATP to ADP: glutathione synthetase and D - alanine: d - alanine ligase of *Escherichia coli* [J]. *Biochemistry*, 1995, 92 (4): 1172 - 1176.