

Allosteric Transitions of Glutamine-Binding Protein Studied by the Elastic Network Model

Lu Jin¹, Nan Xiao¹, Chunhua Li^{1*}, Jianjun Tan¹, Xiaoyi Zhang¹, Jiguo Su²

¹College of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing, China

²College of Science, Yanshan University, Qinhuangdao, China

Email address:

chunhuali@bjut.edu.cn (Chunhua Li), jiguosu@ysu.edu.cn (Jiguo Su)

To cite this article:

Lu Jin, Nan Xiao, Chunhua Li, Jianjun Tan, Xiaoyi Zhang, Jiguo Su. Allosteric Transitions of Glutamine-Binding Protein Studied by the Elastic Network Model. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol. 3, No. 6, 2015, pp. 162-168.

doi: 10.11648/j.bio.20150306.14

Abstract: Glutamine-Binding Protein (GlnBP) from *Escherichia coli* is an extremely important periplasmic binding protein. Binding of glutamine at the cleft between two domains causes a conformational change corresponding to a closure of two domains around the ligand. Because this process has a close relationship with protein function, studying this process has an important biological significance. It is very difficult for the existing experimental methods to obtain the conformational transition of GlnBP. In this paper, we studied the allosteric mechanism of GlnBP by using the adaptive Anisotropic Network Model (aANM) proposed by Bahar and obtained a relatively reasonable allosteric pathway. This work is helpful for the understanding the role of the topology structure in GlnBP conformational transition.

Keywords: Glutamine-Binding Protein, Adaptive Anisotropic Network Model, Allosteric Mechanism

基于弹性网络模型的谷氨酰胺结合蛋白变构路径的研究

靳璐¹, 肖楠¹, 李春华^{1*}, 谭建军¹, 张小轶¹, 苏计国²

¹生命科学与生物工程学院, 北京工业大学, 北京, 中国

²理学院, 燕山大学, 秦皇岛, 中国

邮箱

chunhuali@bjut.edu.cn (李春华), jiguosu@ysu.edu.cn (苏计国)

摘要: 谷氨酰胺结合蛋白 (Glutamine-Binding Protein, GlnBP) 是大肠杆菌透性酶系统中一个极其重要的细胞外液底物专一性结合蛋白。它在转运谷氨酰胺 (Glutamine, Gln) 的过程中发生构象转变, 由于其与蛋白质功能的发挥有着密切的关系, 因此研究此过程具有重要的生物学意义。现有的实验方法很难获得GlnBP的构象转变过程。因此在本文中, 我们利用由Bahar等人提出的自适应各向异性网络模型 (adaptive Anisotropic Network Model, aANM) 对谷氨酰胺结合蛋白变构机制进行研究, 获得了相对合理的变构路径, 了解了拓扑结构在谷氨酰胺结合蛋白变构中所起的作用。

关键词: 谷氨酰胺结合蛋白, 自适应各向异性网络模型, 变构机制

1. 引言

革兰氏阴性菌的细胞包膜包含外膜、内膜和它们之间的细胞外液空间。外膜是半通透性的, 其主要功能是保护

细胞并阻止大分子的进出。细胞外液空间包含大量的小分子传导系统。内膜上包含大量的小分子转运蛋白, 能够把细胞外液的小分子运输到细胞质内[1, 2]。大肠杆菌小分子输运系统由细胞外液空间的小分子专一性结合蛋白和

细胞内膜上的跨膜蛋白构成。目前,公认的转运机理是[3]:当底物小分子进入大肠杆菌的细胞外液空间后,它会迅速与专一性的结合蛋白高效结合并导致结合蛋白构象发生迅速变化,这种构象变化使得结合蛋白与小分子复合物能迅速被锚定于细胞膜上的渗透酶系统的蛋白成分所识别,小分子从结合蛋白中被释放出来并与膜上的跨膜蛋白结合。然后,在跨膜蛋白的作用下,小分子跨过细胞膜进入细胞完成运输。目前,多个细胞外液空间的小分子结合蛋白的晶体结构被解析出来。它们的空间结构具有很高的相似度,都属于 α/β 结构,且都是由两个结构域构成,彼此通过2-3个铰链相连接[4]。两个结构域之间形成一个深的口袋作为小分子的结合位点。

谷氨酰胺结合蛋白(Glutamine-Binding Protein, GlnBP)是大肠杆菌透性酶系统中一个极其重要的细胞外液底物专一性结合蛋白,它对于谷氨酰胺(Glutamine, Gln)的转运是至关重要的。当Gln结合到GlnBP两个结构域之间的口袋区时,会导致两个结构域的闭合运动,发生较大的构象变化。目前,GlnBP未结合底物时的张开构象(open-apo)以及结合底物后复合物的构象(closed-ligand)已经被解析出来[5,6]。值得注意的是,实验上发现,除了open-apo和closed-ligand构象以外,未结合底物的闭合构象(closed-apo)也能够稳定存在[7~9]。并且研究发现,open-apo和closed-apo之间存在一个自由能垒[8]。在一定条件下,两种构象之间形成动态平衡。当其与底物结合后,这种平衡向着闭合构象移动[6]。显然,GlnBP的开合运动对于Gln的结合和转运是至关重要的。

我们课题组已经用分子动力学(Molecular Dynamic, MD)模拟方法以及高斯网络模型(Gaussian Network Model, GNM)研究了open-apo和closed-ligand结构的动力学特征,得到了一些与实验相吻合的结果[10,11]。Hannes等人通过MD模拟和主成分分析(principal component analysis, PCA)揭示了GlnBP通过主要的运动模式发挥其生物学功能[12]。2012年,Pistolesi和Tjandra解释了GlnBP的热力学特性以及在与配体相互作用时疏水结合口袋的显著稳定性[13]。随后2014年,中国科学院武汉物理与数学研究所的唐淳教授课题组利用顺磁弛豫增强

(paramagnetic relaxation enhancement, PRE)核磁共振(NMR)方法,具体地讨论了Gln结合与解离时环区的波动和动力学特性[14]。

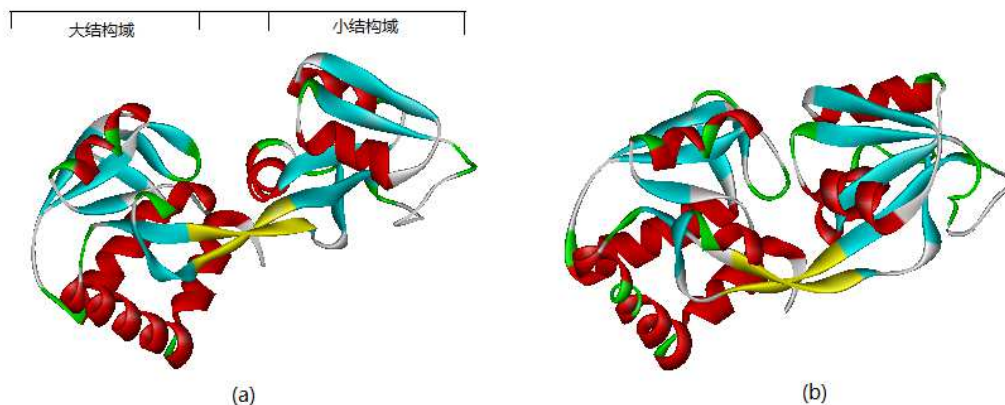
近些年研究人员提出许多方法和模型,用于研究蛋白质构象转变的过程。传统的全原子分子动力学(Molecular Dynamics, MD)模拟由于描述蛋白质体系的势函数十分复杂,模拟过程需耗费大量的计算资源,因此在保证一定精确性的条件下,减小模拟的计算量,发展了一些势函数相对简单、计算量较小的方法。

Tirion提出的弹性网络模型(Elastic Network Model, ENM)[15]就是一种简便的方法,它可以有效获得体系的慢运动模式。在该方法中,只有当两个原子间的距离小于某一截断半径(cutoff)时,才认为它们发生相互作用。原子间的相互作用用谐振势描述,谐振势采用统一的弹性系数。为了进一步减小计算量,Haliloglu等人在ENM的基础上提出了高斯网络模型(GNM)[16]。在该方法中,蛋白质中氨基酸的运动是各向同性的。考虑到氨基酸运动的方向性,Atilgan等人在GNM的基础上提出了各向异性网络模型(Anisotropic Network Model, ANM)[17]。Yang等人在ANM的基础上提出了自适应各向异性网络模型(adaptive Anisotropic Network Model, aANM)[18],该方法可以用于获得蛋白质的变构路径。常珊等人已利用aANM对海藻糖转运蛋白的变构过程进行了分析,得到了较好的结果[19]。这表明此模型对于转运蛋白具有一定的适用性。

通过对以上叙述的认知,我们想进一步了解GlnBP的拓扑结构对其变构机制是否有特别重要的作用。这种开合运动是否由其本身特定结构所决定,是否是其结构本身所固有的动力学特征?本工作是通过自适应各项异性网络模型方法来研究GlnBP在工作中的变构路径和机制,从GlnBP张开状态结构与闭合状态结构出发,获取其变构路径,来探索拓扑结构对谷氨酰胺结合蛋白变构机制的作用。

2. 体系与方法

2.1. 体系的准备



(A) open-apo 结构 (PDB代码: 1GGG); (B) close-apo 结构 (由close-ligand, PDB代码: 1WDN, 去掉Gln所得), 在两个构象中, 铰链区用黄色标出。

图1 谷氨酰胺结合蛋白的open-apo及closed-apo的结构。

谷氨酰胺结合蛋白 (GlnBP) 包括一条226个氨基酸残基的单链, 三级结构包括大约35%的 α 螺旋和37%的 β 片。其中, 大结构域包括了N-末端和C-末端区, 由氨基酸残基片段Ala1-Gly84和Gly186-Lys226构成。该结构域包括5个 α 螺旋和8个 β 片。小结构域则由Leu90-Leu180构成, 包含3个 α 螺旋和4个平行、1个反平行的 β 片, 这两个 β 片层之间由一个大环区 (loop区, 残基Ala96至Lys110) 连接。两个结构域由两个 β 片层 (残基Tyr85-Gly89和残基Glu181-Tyr185) 连接, 它们构成了铰链区。谷氨酰胺结合蛋白未结合底物处于“张开” (open-apo) 构象的晶体结构以及结合底物处于“闭合” (closed-ligand) 构象的复合物的晶体结构已经被解析出来[5, 6]。如图1所示, Closed-apo的结构是通过把closed-ligand结构中的Gln 残基去掉而获得。在晶体结构中, open-apo结构缺失了前四个残基 (1Ala-2Asp-3Lys-4Lys) 和末端两个残基 (225Pro-226Lys) 的坐标, close-apo 结构缺失了前三个残基的坐标。考虑到这些残基对整体的运动模式没有太大影响, 所以没有把它们通过模建的方法添上。为了使得“张开”构象和“闭合”构象能够进行结构上的比较, 我们把close-apo晶体结构中的多余残基去掉, 使它们与open-apo结构具有相同的残基序列长度。

2.2. 自适应各向异性网络模型的基本原理

在自适应各向异性网络模型 (aANM) [19]中, ANM被迭代使用, 利用蛋白质变构前后的两个构象找出变构的一系列中间态结构, 下面介绍该方法。

假定变构前的构象为A, 变构后的构象为B, 用 $R_A^{(0)}$ 和 $R_B^{(0)}$ 表示这两个构象, 它们分别是由各自的 C_α 原子的三维坐标形成的 $3N$ 维向量, $R_A^{(k)}$ 、 $R_B^{(k)}$ 表示第 k 次迭代产生的两个结构, 构象对之间的距离向量 (distance vector) 定义为

$$d^{(k)} = R_B^{(k)} - R_A^{(k)} \quad (1)$$

用来产生第 k 次构象对的形变向量 (deformation vector) 定义为

$$\begin{aligned} v_A^{(k)} &= R_A^{(k)} - R_A^{(k-1)} \\ v_B^{(k)} &= R_B^{(k)} - R_B^{(k-1)} \end{aligned} \quad (2)$$

原始的距离向量是通过构象A和构象B的跌落, 再由下式得到

$$d^{(0)} = R_B^{(0)} - R_A^{(0)} \quad (3)$$

原始的均方根偏差 (RMSD) 为 $|d^{(0)}|/\sqrt{N}$, 第 k 次迭代产生的构象对之间的RMSD为

$$RMSD(R_A^{(k)}, R_B^{(k)}) = \frac{|d^{(k)}|}{\sqrt{N}} \quad (4)$$

aANM包含以下几个步骤:

(i) 由构象A和构象B产生两个中间状态的集合。用来产生 $R_A^{(k)}$ 的计算表达式为

$$R_A^{(k)} = R_A^{(k-1)} + v_A^{(k)} = R_A^{(k-1)} + s_A^{(k)} \sum_{i=1}^{m_A^{(k)}} (d^{(k-1)} \cdot u_{iA}^{(k)}) u_{iA}^{(k)} \quad (5)$$

$R_B^{(k)}$ 的计算与上式类似。 $v_A^{(k)}$ 是利用由 $R_A^{(k-1)}$ 建立的各项异性网络模型得出的前 $m_A^{(k)}$ 个慢运动模式 $u_{iA}^{(k)}$ ($1 \leq i \leq m_A^{(k)}$) 计算获得 (在ANM中, 建网时采用的距离cutoff为 13 Å, 弹性系数 γ 为 0.7 kcal/(mol·Å²))。第 i 个运动模式的权重系数为 $d^{(k-1)} \cdot u_{iA}^{(k)}$, 即距离向量 $d^{(k-1)}$ 在运动模式 $u_{iA}^{(k)}$ 上的投影, 它通过步长 $s_A^{(k)}$ 进行限制。 $s_A^{(k)}$ 和 $s_B^{(k)}$ 在迭代时同时被确定, 它们是在使 $d^{(k)}$ 最小化的 $s_{Am}^{(k)}$ 和 $s_{Bm}^{(k)}$ 乘以一个分数 f ($0 < f < 1$) 得到。当 $f \rightarrow 0$ 时, 每次迭代产生形变向量将会很小, 但这将会耗费大量的计算资源; 当 $f \rightarrow 1$ 时, 每次迭代产生的形变向量较大, 但是这在物理上可能是不真实的。

(ii) 第 k 次迭代所采用的运动模式的数量 $m_A^{(k)}$ 是基于余弦平方阈值 F_{\min} (threshold squared cosine) 选择的, F_{\min} 决定了瞬时位移的方向与目标位移的方向之间最大的角度偏差。为此定义累计余弦平方 (cumulative squared cosine)

$$[C(m_A^{(k)})]^2 = \sum_{i=1}^{m_A^{(k)}} \cos^2(d^{(k-1)}, u_{iA}^{(k)}) \quad (6)$$

选择满足条件 $[C(m_A^{(k)})]^2 \geq F_{\min}$ 的最小的 $m_A^{(k)}$ 作为最终采用的慢运动模式的数量, 通过选择这样一个运动模式的集合, 分子将沿着一条朝着终态, 而并不是任何的结构变化都必要的变构路径, 但这条路径在能量上是有优势的。

从上面的叙述可以看出, aANM涉及到两个参数 (F_{\min} 和 f)。 F_{\min} 决定了运动的方向, f 决定运动的步长。较小的 F_{\min} 保证变构过程沿着能量上升较缓慢的方向进行, 但是要经历一个较长的变构路径。较小的 f 保证了每次迭代产生较小的位移。本文中, 余弦平方阈值 F_{\min} 为 0.4, 步长约束 f 为 0.2。

(iii) 重复以上的过程直到最后两个构象对之间的RMSD变得足够小, 迭代的总次数 k_{tot} 由这个足够小的RMSD决定 (本文定为1.5 Å)。沿着变构路径的一系列构象可以表示为

$$\{R_A^{(0)}, R_A^{(1)}, \dots, R_A^{(k_{tot})}, R_B^{(k_{tot})}, \dots, R_B^{(1)}, R_B^{(0)}\} \quad (7)$$

残基 i 和 j 在第 k 次迭代发生的位移 $h_{A,i}^{(k)}$ 和 $h_{A,j}^{(k)}$ 之间的交叉相关性定义为

$$C_{A,ij}^{(k)} = \cos(h_{A,i}^{(k)}, h_{A,j}^{(k)}) \tag{8}$$

其中, $h_{A,i}^{(k)}$ 和 $h_{A,j}^{(k)}$ 可以从形变向量 $v_A^{(k)}$ 中获得, 表达式如下:

$$h_{A,i}^{(k)} = (v_{A,3i-2}^{(k)}, v_{A,3i-1}^{(k)}, v_{A,3i}^{(k)}) \tag{9}$$

$$h_{A,j}^{(k)} = (v_{A,3j-2}^{(k)}, v_{A,3j-1}^{(k)}, v_{A,3j}^{(k)}) \tag{10}$$

3. 结果与讨论

本工作中, 先利用 VMD[20]将GlnBP的close-apo的结构叠落到open-apo的结构上, 再用自适应各向异性网络模型找出两个态之间的变构路径。

3.1. 运动模式

在aANM中, 变构过程是由ANM计算出的低频运动模式所引导, 所以, 低频运动模式的选择对aANM模拟来说是很重要的。在我们的模拟中, 累积平方余弦 F_{\min} 取为0.4, 从低频段开始选取运动模式, 所选取运动模式的数目需满足不等式 $[C(m_A^{(k)})]^2 \geq F_{\min}$ 。

表1列出了谷氨酰胺结合蛋白在变构过程中, aANM在每次迭代时所选取的运动模式的数目。第一列的参数表示迭代重复的次数。 $m_A^{(k)}$ 和 $m_B^{(k)}$ 分别表示张开和闭合状态在第 k 次迭代选取的运动模式的数量。RMSD表示迭代 k 次后构象对间的均方根偏差。从表1中可看出, 初始结构之间的RMSD为5.34Å, 第11次迭代产生的中间态构象对之间的RMSD小于1.5 Å。在前5次迭代中, RMSD由5.34 Å降低到低于2.5 Å, 选用的运动模式数目不到10个, 在所有运动模式(共660个)中所占的比例不到1.5%。

表1 变构过程中每次迭代采用的运动模式数目。

Iteration(k)	$m_A^{(k)}$	$m_B^{(k)}$	RMSD (Å)
0	—	—	5.34
1	4	6	4.53
2	4	7	3.84
3	5	8	3.32
4	5	8	2.82
5	5	9	2.50
6	5	12	2.24
7	7	13	2.03
8	9	15	1.85
9	12	17	1.68
10	16	28	1.52
11	36	53	1.40

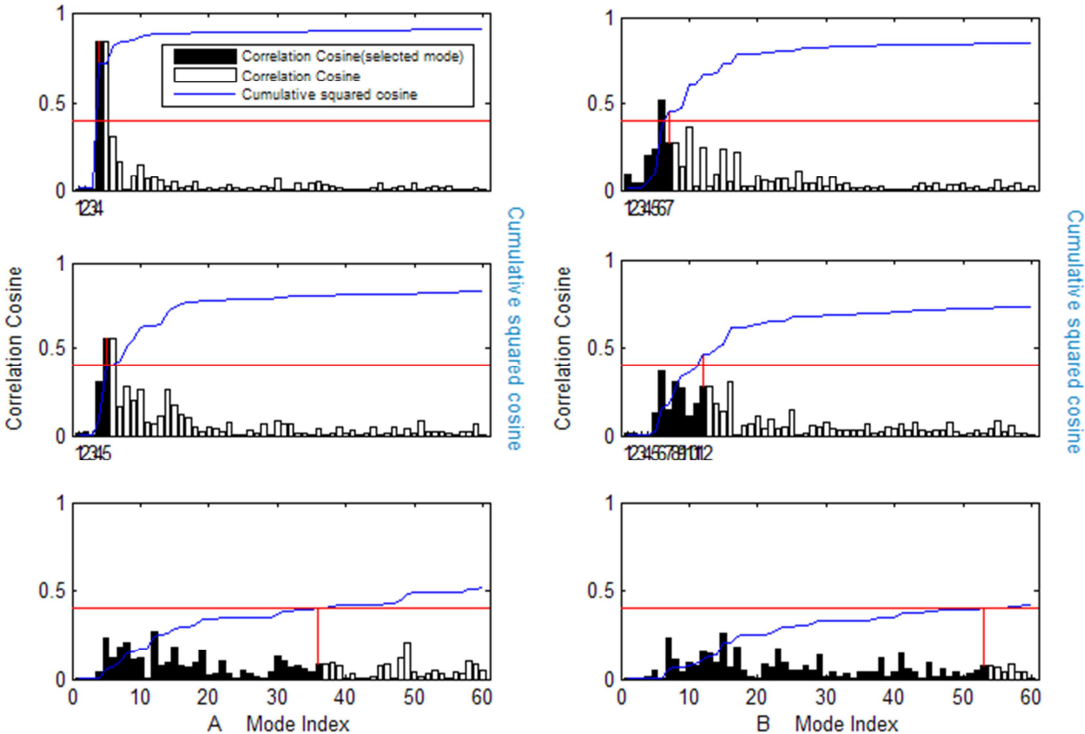


图2 瞬时距离和本征向量之间的夹角余弦关系。

左边的纵坐标显示距离矢量 $d^{(k-1)}$ 和特征向量 u_{iA}^k 之间的夹角余弦, 蓝色曲线表示相应的累积余弦平方。红色直线为限制值 $F_{\min} = 0.4$ 。图中的黑色柱状代表在迭代过程中所选取的运动模式

图2是在迭代过程中参与的运动模式与瞬时距离向量的相关余弦直方图。左边的纵坐标显示距离矢量 $d^{(k-1)}$ 和本征向量 u_{id}^k 之间的夹角余弦，蓝色曲线表示相应的累积平方余弦。红色直线为限制值 $F_{\min} = 0.4$ 。图中的黑色柱状代表在迭代过程中所选取的运动模式。从左到右，从上到下，依次对应为open状态和close状态迭代第2、6、11次的图。从表1和图2，我们可以看出，慢运动模式在迭代初期发挥着主导作用。随着迭代次数的增加，构象发生改变，较高频率的运动模式被选取。这是因为在变构调节的开始几步，两个瞬时端点构象之间存在着较大的且全局的构象差异。众所周知，低频慢运动模式对应于大规模的集合运动。因此，少量的低频运动模式即可满足运动模式选取的条件。低频大幅度的运动模式促使两个瞬时端点构象的RMSD大幅度的降低。之后，随着变构调节的进行，两个瞬时结构在构象空间上逐渐接近于彼此。这时，变构的过程更多地发生在局部结构的变化，我们知道这和高频运动模式有关系。因此，选取的运动模式逐渐增多，这与模型的出发点是一致的，低频运动模式代表了蛋白质的集合运动，在其变构过程中起主导作用。

3.2. GlnBP各结构域间的距离变化

为了探讨GlnBP具体的变构细节，我们分析了来自不同区域间的距离变化（图3）。将GlnBP的大结构域、小结构域以及铰链区的质心，记为Large centroid (Lc)、Small centroid (Sc) 和Hinge centroid (Hc)，并依次计算变构路径上构象各结构域的质心坐标。图中纵坐标即为各结构域的质心坐标间的距离变化，横坐标代表反应坐标。

由图可以看出，大小结构域质心间的距离变化是均匀减小的，在变构过程中，大小结构域不断靠近，最终形成close-apo结构；总体来看铰链区与大结构域以及与小结构域质心间的距离变化几乎一致，但铰链区与小结构域质心间的距离变化幅度大于其与大结构域质心间距离的变化。仔细来看，在变构前期这一现象更加明显，说明了变构开始于小结构域部分残基，变构后期两距离进一步快速下降，在变构末期，可能由于结构域间局部运动使其稍稍有所增加。

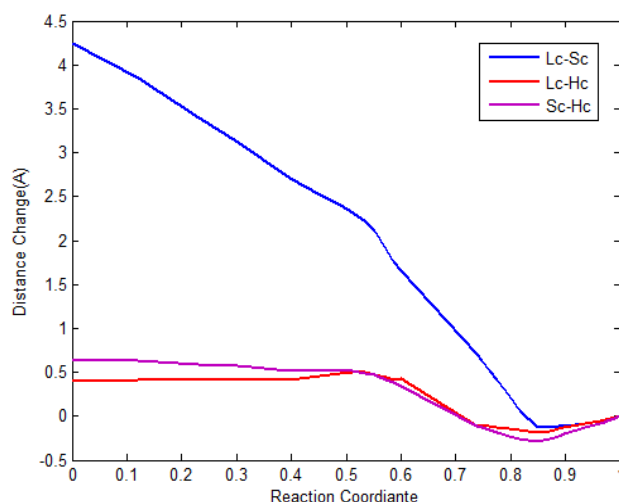


图3 GlnBP大小结构域、铰链区域间质心坐标的距离变化。

3.3. 变构轨迹

从谷氨酰胺结合蛋白的open-apo状态和close-apo状态开始进行迭代，在第十一次迭代后产生的两个瞬时构象之间RMSD差别较小，停止迭代，共产生了22个中间态构象，即GlnBP的变构路径。图4展示了变构过程中6个代表构象，可直观看出其由张开状态转变成闭合状态的变构过程。当迭代开始于open-apo状态时，即从A到C，GlnBP向闭合的方向运动。当迭代开始于close-apo状态时，即从F到D，其向打开的方向运动。为了更清楚的观察GlnBP的变构运动，图中还将GlnBP结构变化明显区域用红色线圈出，可以更加明显地看出结合口袋区域做向内闭合或向外张开的运动，而且，其他区域也有不同程度的构象改变。

3.4. 运动相关性

为了探讨谷氨酰胺结合蛋白各个结构域间的运动相关性，利用式子8-10，我们分别计算了GlnBP在变构初始阶段和最后阶段残基间位移的交叉相关性。

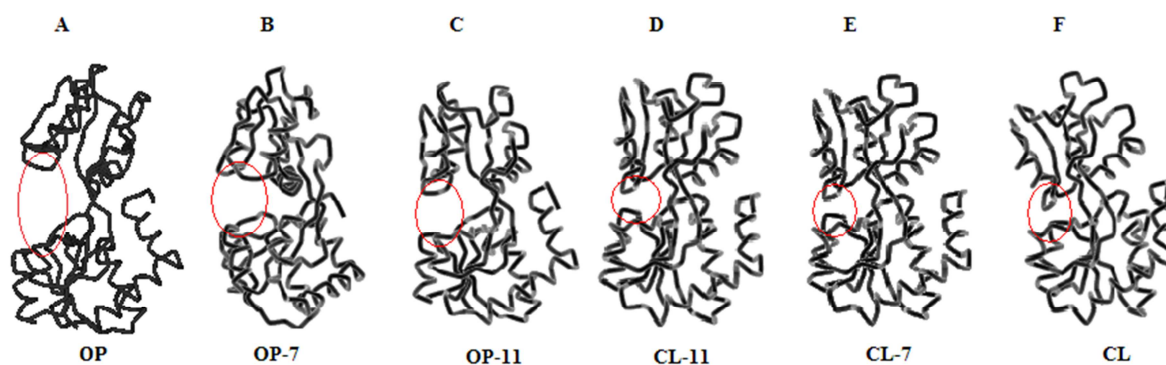


图4 GlnBP变构过程中的代表构象。

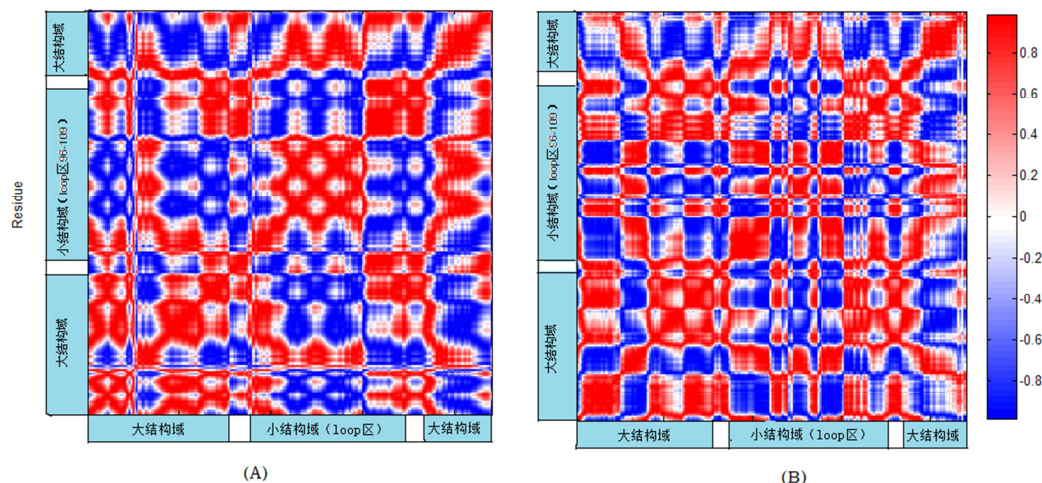


图5 GlnBP残基间位移的交叉相关性。

图5A和B分别显示了GlnBP在变构初始阶段和最后阶段残基间位移的交叉相关性。图中标识出其结构的划分(其中大结构域和小结构域之间为铰链区)。交叉相关性介于-1到1之间,正的相关性表示两残基的运动方向是相同的,负相关性表示两残基的运动方向是相反的,绝对值越大说明相关性(正相关或负相关)越高。相关性为零时,说明残基的运动没有相关性。在图中,蓝色区域表示负相关,红色区域表示正相关。从A中看出,在变构初始阶段大部分的大结构域N-末端区(5-84号残基)与小结构域(90-180号残基)之间呈强的负相关,这与实际情况是相符合的,GlnBP由打开到闭合状态的变构过程中,其大小结构域运动方向是相反的。大结构域C-末端区(186-226号残基)与N-末端之间呈负相关,而与小结构域之间呈正相关,通过比较路径上的结构可知,这部分主要由2个 α 螺旋组成,在变构过程中这部分结构的运动方向是向结合口袋靠拢,因此其在运动过程的形变向量与其他部分的交叉相关性会出现上述结果。在变构的最后阶段(图B),残基间位移的交叉相关性总体变化不大,但均有所减弱。这表明GlnBP的大结构域和小结构域的开合运动发生在变构的整个阶段,并且各结构域的运动并非完全刚性的。

4. 总结

本文用自适应各项异性网络模型方法对谷氨酰胺结合蛋白的拓扑结构与其变构机制间的关系进行了探索和研究,最终获得了谷氨酰胺结合蛋白在机体工作中的变构路径,与实验和MD模拟结果具有一致性。在该变构过程中,大结构域和小结构域的开合运动发生在变构的整个阶段,变构开始于小结构域的部分残基,并且低频慢运动模式起主导作用。这一研究有助于更好地理解谷氨酰胺结合蛋白的变构机制。

致谢

感谢国家自然科学基金(11474013, 31171267, 11204267, 21173014)、北京市自然科学基金(4152011)、

北京市教委(KM201310005030)以及国家留学基金管理委员会对本项目的支持。

参考文献

- [1] Buchanan SK. Type I Secretion and Multidrug Efflux: Transport Through the TolC Channel-tunnel [J]. Trends Biochem. Sci. 2001, 26(1): 3-6.
- [2] Ferguson AD, Deisenhofer J. TonB-dependent Receptors-structural Perspectives [J]. Biochim Biophys Acta. 2002, 1565(2): 318-332.
- [3] Ames GF. Bacterial Periplasmic Transport Systems: Structure, Mechanism, and Evolution [J]. Annu Rev Biochem. 1986, 55: 397-425.
- [4] Gerstein M, Lesk AM, Chothia C. Structural Mechanisms for Domain Movements [J]. Biochemistry. 1994, 33(22): 6739-6749.
- [5] Hsiao CD, Sun YJ, Rose J, Wang BC. The Crystal Structure of Glutamine-binding Protein from Escherichia Coli [J]. J Mol Biol. 1996, 262(2): 225-242.
- [6] Sun YJ, Rose J, Wang BC, Hsiao CD. The Structure of Glutamine-binding Protein Complexed with Glutamine at 1.94 Å Resolution: Comparisons with Other Amino Acid Binding Proteins [J]. J Mol Biol. 1998, 278(1): 219-229.
- [7] Sharff AJ, Rodseth LE, Spurlino JC, Quioco FA. Crystallographic Evidence of a Ligand-induced Hinge-twist Mutation between the Two Domains of the Maltodextrin Binding Protein Involved in Active Transport and Chemotaxis [J]. Biochemistry. 1992, 31(44): 10657-10663.

- [8] Oh BH, Pandit J, Kang CH, Nikaido K, Gokcen S, Ames GF, Kim SH. Three-dimensional Structures of the Periplasmic Lysine/Arginine/Ornithine-binding Protein with and without a Ligand [J]. *J Bio Chem*. 1993, 268(15): 11348-11355.
- [9] Flocco MM, Mowbray SL. The 1.9 Å X-ray Structure of a Closed Unliganded Form of the Periplasmic Glucose/Galactose Receptor from *Salmonella Typhimurium* [J]. *J Biol Chem*. 1994, 269(12): 8931-8936.
- [10] Sun TG, Hu JP, Li CH, Chen WZ, Wang CX. A Molecular Dynamics Simulation Study of Glutamine-binding Protein [J]. *J Mol Struct: THEOCHEM*. 2005, 725(1): 9-16.
- [11] Su JG, Jiao X, Sun TG, Li CH, Chen WZ, Wang CX. Analysis of Domain Movements in Glutamine-Binding Protein with Simple Models [J]. *Biophys J*. 2007, 92(4): 1326-1335.
- [12] Loeffler HH, Kitao A. Collective Dynamics of Periplasmic Glutamine Binding Protein upon Domain Closure [J]. *Biophys J*. 2009, 97(9): 2541-2549.
- [13] Pistolesi S, Tjandra N. Temperature Dependence of Molecular Interactions Involved in Defining Stability of Glutamine Binding Protein and Its Complex with L-Glutamine [J]. *Biochemistry*. 2012, 51(2): 643-652.
- [14] Liu Z, Gong Z, Guo DC, Zhang WP, Tang C. Subtle Dynamics of holo Glutamine Binding Protein Revealed with a Rigid Paramagnetic Probe [J]. *Biochemistry*. 2014, 53(9): 1403-1409.
- [15] Tirion MM. Large Amplitude Elastic Motions in Proteins from a Single-Parameter, Atomic Analysis [J]. *Phys Rev Lett*. 1996, 77(9): 1905-1908.
- [16] Haliloglu T, Bahar I, Erman B. Gaussian Dynamics of Folded Proteins [J]. *Phys Rev Lett*. 1997, 79(16): 3090-3093.
- [17] Atilgan AR, Durell SR, Jernigan RL. Anisotropy of fluctuation dynamics of proteins with an elastic network model [J]. *Biophysical J*. 2001, 80(1): 505-515.
- [18] Yang Z, Majek P, Bahar I. Allosteric transitions of supramolecular systems explored by network models: application to chaperonin GroEL [J]. *PLoS Comput Biol*. 2009, 5(4): e1000360.
- [19] Chang S, Li KS, Hu JP, Jiao X, Tian XH. Allosteric and transporter behavior analyses of a fucose transporter with network models [J]. *Soft Matter*. 2011, 10(7): 4661-4671.
- [20] Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: visual molecular dynamics [J]. *J Mol Graph*. 1996, 14(1): 33-38, 27-28.