

# Sàng lọc và dự đoán các chất nguồn gốc thiên nhiên tiềm năng ức chế enzyme polysaccharide monooxygenase bằng các công cụ tính toán

Screening and predicting potential natural inhibitors of polysaccharide monooxygenase using computational tools

Nguyễn Minh Hùng<sup>a\*</sup>, Vũ Văn Vân<sup>b</sup>  
Nguyen Minh Hung<sup>a\*</sup>, Vu Van Van<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Trung tâm Sinh học phân tử, Trường Y Dược, Trường Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

<sup>a</sup>Center for Molecular Biology, College of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Vietnam

<sup>b</sup>Viện Kỹ thuật Công nghệ cao Nguyễn Tất Thành, Đại học Nguyễn Tất Thành, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>b</sup>Nguyen Tat Thanh Hi-Tech Institute, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

(Ngày nhận bài: 14/01/2024, ngày phản biện xong: 20/05/2024, ngày chấp nhận đăng: 27/05/2024)

## Tóm tắt

Một số enzyme PMO của nấm đạo ôn *Magnaporthe oryzae* được biểu hiện mạnh trong quá trình xâm nhiễm vào cây lúa. Đây có thể là nhân tố trợ giúp trong quá trình xâm nhiễm của nấm đạo ôn vào vật chủ, do đó việc nghiên cứu các chất ức chế enzyme PMO có nguồn gốc từ thiên nhiên có thể mang lại một phương pháp kháng bệnh đạo ôn thân thiện với môi trường. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã sử dụng các công cụ tính toán để sàng lọc các hợp chất thiên nhiên ức chế enzyme PMO MGG\_06069 (AA9) từ cơ sở dữ liệu Vietherbs của hơn 4600 các hợp chất thiên nhiên khác nhau. Kết quả mô phỏng động lực học phân tử và mô phỏng docking phân tử cho thấy có 41873 cấu hình docking với AA9, trong đó có 03 hợp chất (Pubchem ID 164630, 5322012, và 6325833) tạo ái lực liên kết mạnh nhất với AA9.

**Từ khóa:** *Magnaporthe oryzae*; bệnh đạo ôn; enzyme PMO; mô phỏng, docking.

## Abstract

Some PMO enzymes of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* were highly expressed during infection in rice. These PMO enzymes could facilitate fungal penetration into rice tissues; therefore, the study of naturally derived PMO enzyme inhibitors may provide an eco-friendly method to control rice blast disease. In this study, we used computational tools to screen natural compounds that potentially inhibit PMO enzyme MGG\_06069 (AA9) from the Vietherbs database of more than 4,600 different natural compounds. The results of molecular and molecular docking simulations showed that there were 41873 docking compounds with AA9, of which 03 compounds (Pubchem ID 164630, 5322012, and 6325833) showed highly potent inhibitors with sub-nanomolar affinities.

**Keywords:** *Magnaporthe oryzae*; rice blast disease; PMO enzyme; simulation; docking.

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Minh Hùng

Email: hungmolbio@gmail.com

## 1. Mở đầu

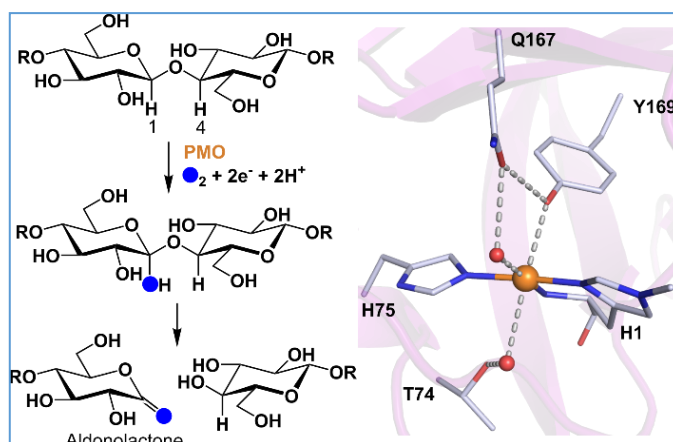
Đồng là một trong những kim loại oxy hóa khử được sử dụng nhiều nhất trong sinh học [1]. Có một số loại vị trí hoạt động của đồng trong sinh học với sự kết hợp khác nhau của các phối tử N, O và S. Trung tâm hoạt động monocopper loại 2 chứa các phối tử N/O, được tìm thấy trong nhiều enzyme hoạt hóa oxy. Trong thập kỷ trước, trung tâm hoạt động monocopper loại 2 mới được xác định trong polysaccharide monooxygenase (PMO), một họ của enzyme hoạt hóa oxy có thể phân cắt các polysaccharide thông qua hydroxyl hóa liên kết CH gây ra sự phân cắt liên kết glycosidic (Hình 1) [2-10]. Do tác dụng phân cắt oxy hóa mới của chúng, PMO, còn được gọi là PMO dung dịch (LPMO), có khả năng hoạt động hiệp đồng với các hydrolase glycoside (GH) truyền thống được sử dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp. Do đó, PMO có tiềm năng to lớn trong việc cải thiện các quá trình chuyển đổi sinh khối.

PMO sử dụng histidine đầu N bảo tồn (H1) và một histidine bảo tồn khác (H75 trong cấu trúc PDB 5UFV) để điều phối trung tâm đồng theo mô típ hình chữ T được gọi là nẹp histidine [6] (Hình 1). Trong hầu hết các họ PMO, một tyrosine chiếm vị trí phối trí proximal. Vị trí equatorial và vị trí distal mở để liên kết với các phối tử ngoại lai như O<sub>2</sub> và nước. Một số đơn phân bao quanh các tâm đồng, chẳng hạn như đơn phân được bảo tồn Q167 trong các PMO hoạt tính trên cellulose, tạo thành liên kết H với các phối tử vị trí hoạt động, đã được chứng minh là rất quan trọng đối với hoạt tính [3, 11].

Khi nghiên cứu kỹ các trung tâm đồng trong tất cả các họ PMO đã được mô tả đặc trưng, chúng tôi nhận thấy rằng có sự đa dạng lớn về cả

hình học của inner sphere và mạng liên kết hydro xung quanh trung tâm hoạt động [12]. Tuy nhiên, chỉ trong một số trường hợp có các cấu trúc độ phân giải cao, trung tâm Cu(II) của PMO mới được mô tả chi tiết [13-16]. Trong hầu hết các cấu trúc, trung tâm đồng bị hư hỏng bởi chùm tia X cường độ cao được sử dụng để thu thập dữ liệu XRD [12]. Hơn nữa, các cấu trúc XRD chỉ cung cấp quan điểm tĩnh trên các trang web hoạt động của đồng. Trong nhiều PMO, phổ cộng hưởng thuận từ điện tử (EPR) cho thấy tâm đồng tồn tại trong một hỗn hợp của các cấu trúc khác nhau [9-11, 17].

Sự hiểu biết chi tiết về trung tâm hoạt động đơn nhân đồng là việc cần thiết để hiểu được cơ chế của PMO. Do sự hạn chế về dữ liệu thực nghiệm nói trên, các công cụ tính toán đã được sử dụng để nghiên cứu về trung tâm hoạt động của các PMO [18] cũng như cơ chế phản ứng [19] hay tương tác giữa chúng với các cơ chất [20]. Các phương pháp tính toán này đã được sử dụng để sàng lọc chất ức chế cho nhiều enzyme [21, 22] và cũng có thể được áp dụng để sàng lọc các chất ức chế PMO. Các PMO của nấm đạo ôn *Magnaporthe oryzae*, bao gồm MGG\_06069 (AA9) và MGG\_00245 (AA16), được biểu hiện mạnh trong quá trình xâm nhiễm vào vật chủ (cây lúa). Ức chế các enzyme này sử dụng các chất ức chế tự nhiên có thể mang lại một phương pháp thân thiện môi trường để kháng bệnh đạo ôn trên cây lúa. Các PMO thuộc họ PMO AA16 chưa được nghiên cứu cấu trúc, trong khi họ PMO AA9 đã được nghiên cứu. Vì vậy, chúng tôi tập trung vào việc sàng lọc các chất ức chế tự nhiên cho AA9. 4600 hợp chất thiên nhiên từ cơ sở dữ liệu Vietherbs [23], cơ sở dữ liệu các hợp chất tự nhiên ở Việt Nam, sẽ được nghiên cứu.



Hình 1. Sự phân cắt liên kết glycosidic gây ra bởi sự hydroxyl hóa liên kết C-H bởi vị trí hoạt động của đồng trong PMO.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Cấu trúc AA9 và chất ức chế

Khoảng hơn 4600 chất thiên nhiên từ cơ sở dữ liệu Vietherbs [23] được sử dụng để đánh giá khả năng ức chế enzyme AA9 (tên gọi khác là enzyme PMO). Cấu trúc 3 chiều của các hợp chất thu được từ cơ sở dữ liệu PubChem [24-26]. Trong khi đó, cấu trúc 3 chiều của AA9 được tải từ ngân hàng cơ sở dữ liệu protein (Protein Data Bank) với ID 5TKI [16].

### 2.2. Tính toán hóa học lượng tử

Vị trí hoạt động đồng trong cấu trúc XRD của AA9 được sử dụng để chuẩn bị các mô hình đầu vào cho tính toán DFT. Các residue quan trọng tạo thành tương tác đáng kể với tâm đồng được lấy bằng MCPB.py [27] với mức cắt 4,1 Å từ nguyên tử đồng. Các mô hình được tối ưu hóa về mặt hình học trong môi trường nước ẩn (hằng số điện môi  $\epsilon \sim 78,4$ ) bằng cách sử dụng phép tính lượng tử hóa học với B3LYP phiếm hàm lai ở mức 6-31G (d, p).

### 2.3. Mô phỏng docking phân tử

AutoDock Vina [28] được sử dụng để gắn các chất ức chế có sẵn vào khe hở liên kết của AA9. Khe hở liên kết được chọn có trung tâm là  $\text{Cu}^{2+}$ . Trong đó, kích thước lưới docking được chọn là  $24 \times 24 \times 24$  Å. Mặc dù, hiệu suất của AutoDock Vina phụ thuộc vào tham số exhaustiveness, được chọn là 8 do các kết quả đánh giá cho thấy 8 là một giá trị phù hợp [29]. Chênh lệch năng lượng

lớn nhất giữa các cấu hình docking được đặt thành  $7 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Ái lực liên kết phối tử lớn nhất được chọn là cấu trúc gắn kết tốt nhất.

### 2.4. Mô phỏng động lực học phân tử

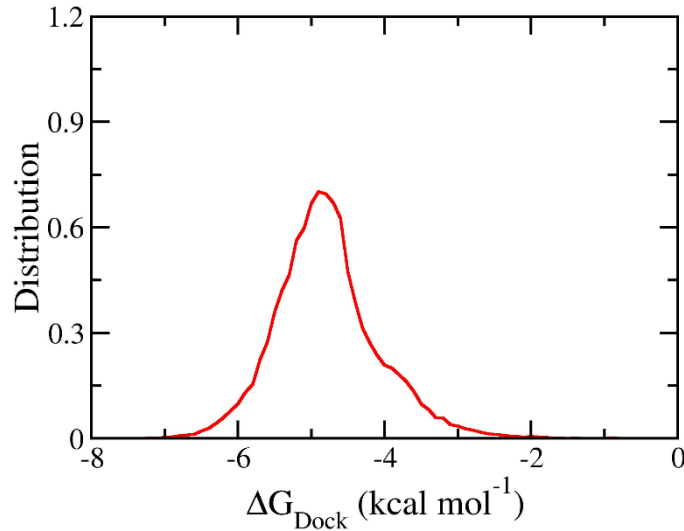
GROMACS phiên bản 5.1.5 [30] với khả năng tăng tốc GPU được sử dụng để mô phỏng động lực học phân tử của hệ AA9 + chất ức chế. Các thông số mô phỏng MD được tham khảo từ các nghiên cứu trước đó [18, 31, 32]. Các cặp không liên kết được tính toán với cut-off 0,9 nm. Cụ thể, các tương tác van der Waals (vdW) được tính toán với khoảng cách 0,9 nm và phương pháp lưới hạt Ewald được sử dụng để tính toán tương tác tĩnh điện với khoảng cách 0,9 nm. Ban đầu, các hệ thống solvat hóa được cực tiểu hóa bằng cách sử dụng phương pháp dốc cao nhất (steepest descent). Các hệ đã cực tiểu sau đó được hồi phục trong 0,1 ns mô phỏng NVT và mô phỏng NPT. Ảnh chụp nhanh cuối cùng của mô phỏng NPT được sử dụng làm đầu vào cho mô phỏng MD. Mỗi quỹ đạo dài 100 ns. Dữ liệu mô phỏng được ghi lại sau mỗi 1 ps.

## 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Các phân tử hợp chất tự nhiên từ cơ sở dữ liệu Vietherb được dock vào AA9 sử dụng AutoDock Vina, phần mềm docking nguồn mở phổ biến với hơn 10000 trích dẫn trong mười năm qua [33]. AutoDock Vina được sử dụng vì cho kết quả đáng tin cậy với enzyme AA13 [34]. Ứng với mỗi chất tự nhiên có khoảng 9 vị trí liên

kết với AA9 (pose). Do đó, chúng ta có 41873 kết quả docking cho AA9. Phân bố năng lượng

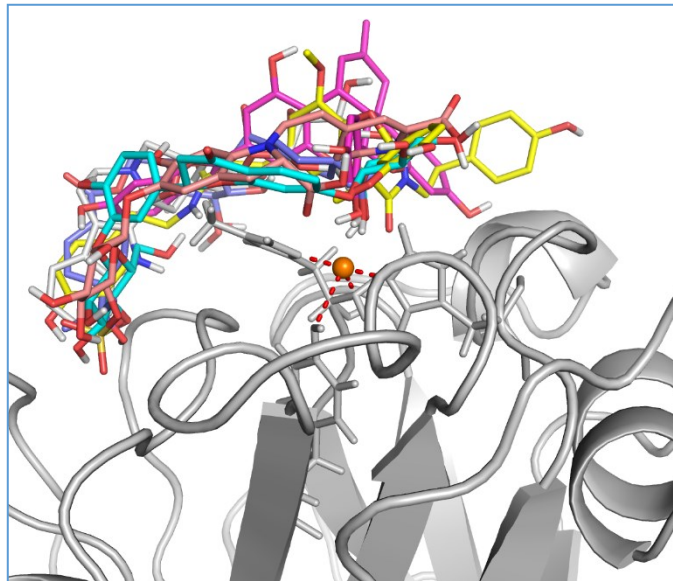
liên kết tự do docking của các hợp chất tự nhiên với AA9 được thể hiện trong Hình 2.



Hình 2. Phân bố ái lực liên kết tự do của các chất tự nhiên với AA9. Ái lực liên kết tự do thu được từ phương pháp docking phân tử sử dụng phần mềm AutoDock Vina.

Các hợp chất có thể tạo liên kết không hóa trị với  $\text{Cu}^{2+}$  có nhiều tiềm năng có thể ức chế hoạt tính của AA9. Do đó, chúng tôi tiến hành sàng lọc kết quả docking sử dụng tính toán khoảng cách cực tiểu từ phối tử tới  $\text{Cu}^{2+}$ . Các hợp chất có nguyên tử tạo khoảng cách nhỏ nhất tới  $\text{Cu}^{2+}$

nhỏ hơn 0.3 nm sẽ được ghi nhận. Sắp xếp ái lực liên kết tự do từ nhỏ đến lớn các cấu hình docking này. Chúng tôi đề xuất top-lead compounds có khả năng ức chế AA9 thông qua tạo liên kết hydro với  $\text{Cu}^{2+}$  như Hình 3.



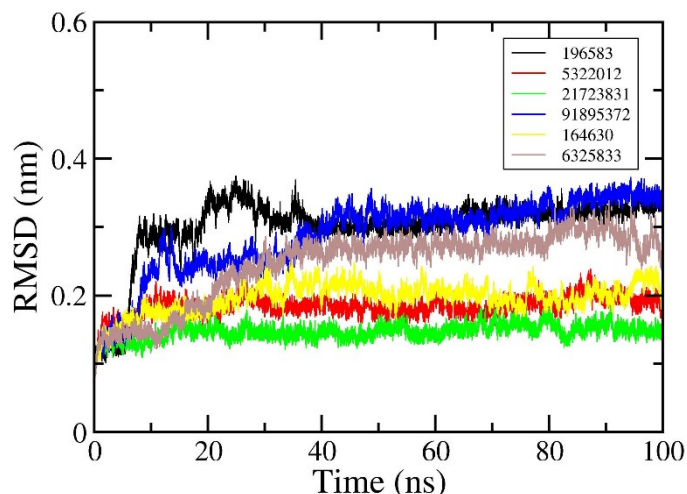
Hình 3. Cấu hình liên kết docking của top-lead 6 hợp chất tự nhiên tạo liên kết với  $\text{Cu}^{2+}$ . Kết quả thu được bởi mô phỏng AutoDock Vina và trình bày bởi PyMOL 1.3.

Do mô phỏng docking phân tử sử dụng nhiều gần đúng (như mô hình nước ẩn, chỉ sử dụng các hydrogen phân cực, giới hạn số vị trí thử của

phối tử, cấu trúc của enzyme là cố định). Mô phỏng động lực học phân tử không định kiến được sử dụng để tinh chỉnh kết quả docking thu

được. Vị trí liên kết của phối tử với AA9 được hồi phục trong thời gian 100 ns mô phỏng động

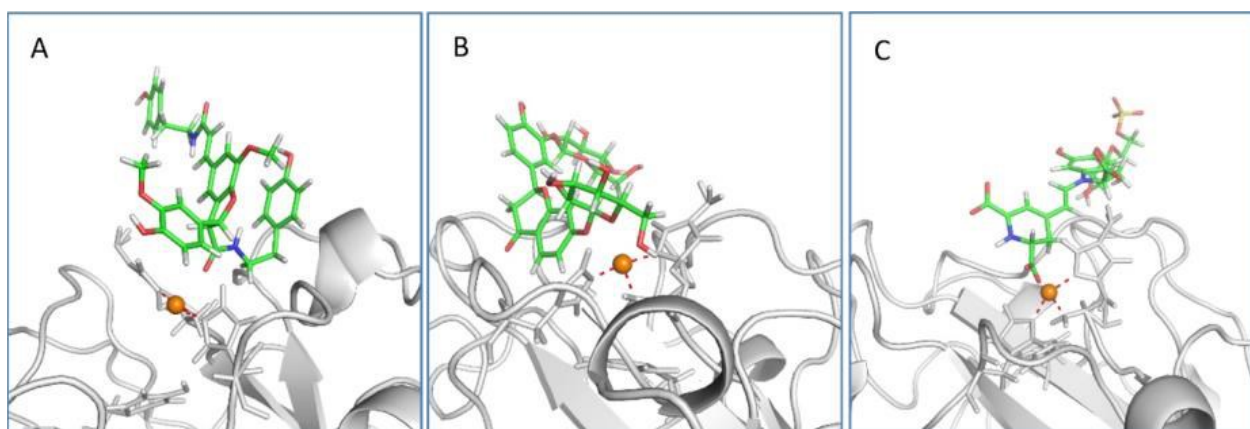
lực học phân tử. Phần lớn các hệ đạt tới cân bằng sau 40 ns của mô phỏng (Hình 4).



Hình 4. Độ lệch quân phương đầy đủ nguyên tử của các hệ AA9 + chất ức chế trong mô phỏng động lực học phân tử.

Sau khi tinh chỉnh bằng mô phỏng động lực học phân tử chỉ có 3 hợp chất có Pubchem ID 164630, 5322012, và 6325833 tạo liên kết chặt chẽ với AA9 (Hình 5). Việc này có thể khẳng định khả năng ức chế hoạt tính của AA9 bởi 3 hợp chất nói trên. Tiến hành nghiên cứu sâu hơn

sử dụng phương pháp lai giữa mô phỏng cơ học lượng tử với cơ học cổ điển (QM/MM) nên được áp dụng để tái khẳng định khả năng này. Đồng thời, các nghiệm *in vitro* cũng nên được tiến hành nhằm khẳng định kết quả tính toán.



Hình 5. Cấu hình liên kết của 164630 (Butrin) (A), 5322012 (Grossamide) (B) và 6325833 (Prebetanin) (C) với AA9 đã được tinh chỉnh thông qua mô phỏng động lực học phân tử.

#### 4. Kết luận

Một số hợp chất tự nhiên có khả năng tạo liên kết với AA9, trong đó 164630, 5322012 và 6325833 là 3 chất tiềm năng nhất được đề xuất bởi mô phỏng động lực học phân tử và mô phỏng docking phân tử. Các phối tử này đều có tương tác không liên kết với Cu(II) trong trung tâm hoạt hóa của protein. Các nghiên cứu chuyên sâu

hơn như tính toán ái lực liên kết tự do sử dụng mô phỏng động lực học phân tử hay các tính toán QM/MM giúp làm sáng tỏ có hay không phản ứng hóa học hoặc tạo liên kết phối trí giữa AA9 và phối tử hay nghiên cứu *in vitro* sẽ được tiến hành trong tương lai gần để tái khẳng định kết quả thu được.

**Lời cảm ơn:** Công trình khoa học này là một phần kết quả của Chương trình Hợp tác Khoa học và Công nghệ theo Nghị định thư giữa Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam và Bộ Ngoại giao và Hợp tác quốc tế Italia (Mã số NĐT.36.ITA/18).

### Tài liệu tham khảo

- [1] Solomon, E.I., Heppner, D.E., Johnston, E.M., *et al.* (2014). "Copper Active Sites in Biology". *Chem Rev*, 114, 3659-3853.
- [2] Vaaje-Kolstad, G., Westereng, B., Horn, S.J., *et al.* (2010). "An Oxidative Enzyme Boosting the Enzymatic Conversion of Recalcitrant Polysaccharides". *Science*, 330, 219-222. DOI:10.1126/science.1192231
- [3] Harris, P.V., Welner, D., McFarland, K.C., *et al.* (2010). "Stimulation of Lignocellulosic Biomass Hydrolysis by Proteins of Glycoside Hydrolase Family 61: Structure and Function of a Large, Enigmatic Family". *Biochemistry*, 49, 3305-3316. DOI:10.1021/bi100009p
- [4] Beeson, W.T., Phillips, C.M., Cate, J.H.D., *et al.* (2012). "Oxidative Cleavage of Cellulose by Fungal Copper-Dependent Polysaccharide Monooxygenases". *J Am Chem Soc*, 134, 890-892. DOI:10.1021/ja210657t
- [5] Phillips, C.M., Beeson, W.T., Cate, J.H.D., *et al.* (2011). "Cellobiose Dehydrogenase and a Copper-Dependent Polysaccharide Monooxygenase Potentiate Cellulose Degradation by *Neurospora crassa*". *ACS Chem Biol*, 6, 1399-1406. DOI:10.1021/cb200351y
- [6] Quinlan, R.J., Sweeney, M.D., Lo Leggio, L., *et al.* (2011). "Insights into the oxidative degradation of cellulose by a copper metalloenzyme that exploits biomass components". *Proc Natl Acad Sci USA*, 108, 15079-15084. DOI:10.1073/pnas.1105776108
- [7] Vu, V.V., Beeson, W.T., Span, E.A., *et al.* (2014). "A family of starch-active polysaccharide monooxygenases". *Proc Natl Acad Sci USA*, 111, 13822-13827. DOI:10.1073/pnas.1408090111
- [8] Hemsworth, G.R., Henrissat, B., Davies, G.J., *et al.* (2014). "Discovery and characterization of a new family of lytic polysaccharide monooxygenases". *Nat Chem Biol*, 10, 122-126.
- [9] Sabbadin, F., Hemsworth, G.R., Ciano, L., *et al.* (2018). "An ancient family of lytic polysaccharide monooxygenases with roles in arthropod development and biomass digestion". *Nat Comm*, 9, 756. DOI:10.1038/s41467-018-03142-x
- [10] Couturier, M., Ladevèze, S., Sulzenbacher, G., *et al.* (2018). "Lytic xylan oxidases from wood-decay fungi unlock biomass degradation". *Nat Chem Biol*, 14, 306. DOI:10.1038/nchembio.2558
- [11] Span, E.A., Suess, D.L.M., Deller, M.C., *et al.* (2017). "The role of the secondary coordination sphere in a fungal polysaccharide monooxygenase". *ACS Chem Biol*, 12, 1095-1103. DOI:10.1021/acscchembio.7b00016
- [12] Vu, V.V. and Ngo, S.T. (2018). "Copper Active Site in Polysaccharide Monooxygenases". *Coord Chem Rev*, 368, 134-157. DOI:https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.04.005
- [13] Forsberg, Z., Nelson, C.E., Dalhus, B., *et al.* (2016). "Structural and Functional Analysis of a Lytic Polysaccharide Monooxygenase Important for Efficient Utilization of Chitin in *Cellvibrio japonicus*". *J Biol Chem*, 291, 7300-7312. DOI:10.1074/jbc.M115.700161
- [14] Vaaje-Kolstad, G., Bøhle, L.A., Gåseidnes, S., *et al.* (2012). "Characterization of the Chitinolytic Machinery of *Enterococcus faecalis* V583 and High-Resolution Structure of Its Oxidative CBM33 Enzyme". *J Mol Biol*, 416, 239-254.
- [15] Gregory, R.C., Hemsworth, G.R., Turkenburg, J.P., *et al.* (2016). "Activity, stability and 3-D structure of the Cu(II) form of a chitin-active lytic polysaccharide monooxygenase from *Bacillus amyloliquefaciens*". *Dalton Trans*, 45, 16904-16912. DOI:10.1039/C6DT02793H
- [16] O'Dell, W.B., Agarwal, P.K. and Meilleur, F. (2017). "Oxygen activation at the active site of a fungal lytic polysaccharide monooxygenase". *Angew Chem Intl Ed*, 56, 767-770. DOI:10.1002/anie.201610502
- [17] Lo Leggio, L., Simmons, T.J., Poulsen, J.-C.N., *et al.* (2015). "Structure and boosting activity of a starch-degrading lytic polysaccharide monooxygenase". *Nat Commun*, 6, 5961. DOI:10.1038/ncomms6961
- [18] Ngo, S.T., Phan, H.N., Le, C.N., *et al.* (2020). "Fine Tuning of the Copper Active Site in Polysaccharide Monooxygenases". *J Phys Chem B*, 124, 1859-1865. DOI:10.1021/acs.jpcc.9b08114
- [19] Wang, B., Johnston, E.M., Li, P., *et al.* (2018). "QM/MM Studies into the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Dependent Activity of Lytic Polysaccharide Monooxygenases: Evidence for the Formation of a Caged Hydroxyl Radical Intermediate". *ACS Catalysis*, 8, 1346-1351. DOI:10.1021/acscatal.7b03888
- [20] Borisova, A.S., Isaksen, T., Dimarogona, M., *et al.* (2015). "Structural and Functional Characterization of a Lytic Polysaccharide Monooxygenase with Broad Substrate Specificity \*". *Journal of Biological Chemistry*, 290, 22955-22969. DOI:10.1074/jbc.M115.660183
- [21] Lin, X., Li, X. and Lin, X. (2020). "A Review on Applications of Computational Methods in Drug Screening and Design". *Molecules (Basel)*



- Switzerland), 25, 1375.  
DOI:10.3390/molecules25061375
- [22] Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., *et al.* (2013). "Computational methods in drug discovery". *Pharmacological reviews*, 66, 334-395. DOI:10.1124/pr.112.007336
- [23] Nguyen-Vo, T.-H., Le, T., Pham, D., *et al.* (2019). "VIETHERB: A Database for Vietnamese Herbal Species". *J Chem Inf Model*, 59, 1-9. DOI:10.1021/acs.jcim.8b00399
- [24] Kim, S., Thiessen, P.A., Bolton, E.E., *et al.* (2016). "PubChem Substance and Compound databases". *Nucleic Acids Res*, 44, D1202-D1213. DOI:10.1093/nar/gkv951
- [25] Wang, Y., Xiao, J., Suzek, T.O., *et al.* (2012). "PubChem's BioAssay Database". *Nucleic Acids Res*, 40, D400-D412. DOI:10.1093/nar/gkr1132
- [26] Xie, X.-Q.S. (2010). "Exploiting PubChem for virtual screening". *Expert Opin Drug Discov*, 5, 1205-1220. DOI:10.1517/17460441.2010.524924
- [27] Li, P. and Merz, K.M. (2016). "MCPB.py: A Python Based Metal Center Parameter Builder". *J Chem Inf Model*, 56, 599-604. DOI:10.1021/acs.jcim.5b00674
- [28] Chang, M.W., Ayeni, C., Breuer, S., *et al.* (2010). "Virtual Screening for HIV Protease Inhibitors: A Comparison of AutoDock 4 and Vina". *Plos ONE*, 5, e11955. DOI:10.1371/journal.pone.0011955
- [29] Nguyen, N.T., Nguyen, T.H., Pham, T.N.H., *et al.* (2020). "Autodock Vina Adopts More Accurate Binding Poses but Autodock4 Forms Better Binding Affinity". *J Chem Inf Model*, 60, 204-211. DOI:10.1021/acs.jcim.9b00778
- [30] Abraham, M.J., Murtola, T., Schulz, R., *et al.* (2015). "GROMACS: High Performance Molecular Simulations through Multi-Level Parallelism from Laptops to Supercomputers". *SoftwareX*, 1-2, 19-25. DOI:10.1016/j.softx.2015.06.001
- [31] Tran, P.-T., Hoang, V.-H., Lee, J., *et al.* (2019). "In vitro and in silico determination of glutaminyl cyclase inhibitors". *RSC Adv*, 9, 29619-29627. DOI:10.1039/C9RA05763C
- [32] Tung, N.T., Derreumaux, P., Vu, V.V., *et al.* (2019). "C-Terminal Plays as the Possible Nucleation of the Self-Aggregation of the S-Shape A $\beta$ 11-42 Tetramer in Solution: Intensive MD Study". *ACS Omega*, 4, 11066-11073. DOI:10.1021/acsomega.9b00992
- [33] Trott, O. and Olson, A.J. (2010). "Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading". *J Comput Chem*, 31, 455-461. DOI:10.1002/jcc.21334
- [34] Vu, V.V., Hangasky, J.A., Detomasi, T.C., *et al.* (2019). "Substrate selectivity in starch polysaccharide monooxygenases". *J Biol Chem*, 294, 12157-12166. DOI:10.1074/jbc.RA119.009509