

Tutorials

Introduction to the NAC4ED

NAC4ED 是用于定向改造并分析酶分子的一个全面的酶底物选择性智能设计系统软件，它采用完全合理的蛋白酶设计和转化方法，通过定点突变、动力学模拟、分子对接和构建突变位点筛选方案的方法，对酶分子进行完全合理的设计和转化，从而提高酶分子的性能。

NAC4ED 是一个免费的在线查询工具，您所需做的仅仅是完成账号的注册，输入您所需的酶突变相关信息，随后经系统处理后就可以自动得到相应的分子对接结果。

为了正确并充分使用该功能，仔细阅读本教程十分重要，以下是如何使用 NAC4ED 的基本概述：

[注册与登录](#)

[填写与递交](#)

[结果与反馈](#)

Registration and Login

为了能够使用本软件，您必须准确并详细填写您的个人信息，完成在 <https://lujialab.org.cn/>的账号注册，注册完成后，后续使用用户名与密码登录即可。

以下是注册与登录的基本流程：

Filling out forms and Submitting

账号注册完成并登录后，在 <https://lujialab.org.cn/software/> 页面点击左侧软件标题 NAC4ED 即可进入递交页面。软件基本界面如图所示：

NAC4ED

Your Uploaded Files

ID	Form Type	Protein	Ligand	Upload Time	Protein File	Ligand File	Result File
----	-----------	---------	--------	-------------	--------------	-------------	-------------

NAC4ED

Protein Name:	<input type="text"/>
Ligand Name:	<input type="text"/>
Protein Chains:	<input type="text"/>
The amino acid residue numbers:	<input type="text"/>
The amino acid residue name:	<input type="text"/>
The amino acid residue atom name:	<input type="text"/>
Ligand atoms to be measured:	<input type="text"/>
Residues desired for mutation:	<input type="text"/>
Upload Protein File (pdb, max 5MB):	<input type="button" value="选择文件"/> 未选择任何文件
Upload Ligand File (pdb/sdf, max 5MB):	<input type="button" value="选择文件"/> 未选择任何文件

以下是对填写表格与递交整体流程的概述：

- 1、获取您所期望处理的酶的 pdb 文件以及反应物的 pdb（或 sdf）文件并保存于本地。pdb 文件的具体格式详见 <https://www.wwpdb.org/documentation/file-format>。使用文本文档打开以确定氨基酸残基、编号、特定原子等信息；使用 PyMOL 打开以确定该蛋白质的三维结构。
- 2、为蛋白质与配体命名，填写于 Protein Name 与 Ligand Name 栏中。（仅使用大小写字母与数字）
- 3、确定蛋白质链，填写其中一条肽链的大写字母于 Protein Chains 一栏中（A or B or C……）
- 4、确定酶催化中心进攻或被进攻或有电子转移的氨基酸残基类型与编号，分别填写于 The amino acid residue name 与 The amino acid residue numbers 栏中。

注：The amino acid residue name 一栏仅可填写代表氨基酸残基的三个大写字母！
(e.g. GLY)

The amino acid residue numbers 一栏仅可填写阿拉伯数字！ (e.g. 116)

5、指定您所期望处理的该氨基酸残基的特定原子，填写于 The amino acid residue atom name 一栏中。(e.g. HA3)

6、指定需要测量的反应物特定原子，填写于 Ligand atoms to be measured 一栏中 (e.g. C2)

7、确定希望计算的突变氨基酸，填写于 Residues desired for mutation 栏中。突变点格式为：野生型氨基酸残基大写字母 + 突变位置（以阿拉伯数字表示）+ 突变型氨基酸残基大写字母。(e.g. PHE116ASP) 若希望突变多个单突，中间以空格分隔即可。(e.g. PHE116ASP SER86ARG ASP3ALA)

8、最后上传目标酶与反应物的文件，大小均限制在 5MB 以内。

检查并确保以上信息准确无误后，点击下方“Submit”即可递交。

需严格确保上述信息填写格式符合标准，准确无误，否则点击递交会显示错误信息“您输入的信息格式不正确”。

整体填写示例如下：

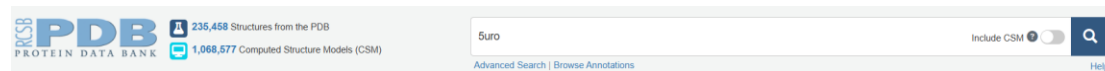
NAC4ED 上传表单栏目信息：

- 1) Protein Name: ANEH
- 2) Ligand Name: sto
- 3) Protein Chains: A
- 4) The amino acid residue numbers: 116
- 5) The amino acid residue name: GLY
- 6) The amino acid residue atom name: HA3
- 7) Ligand atoms to be measured: C2
- 8) Residues desired for mutation: PHE116ASP SER86ARG ASP3ALA
- 9) 上传 Protein File:文件格式为 pdb, 大小为 5MB 以内
- 10) 上传 Ligand File:文件格式为 pdb 或 sdf, 大小为 5MB 以内

这里详细介绍一下如何获取 PDB 文件并进行上述流程：

① 搜索您所期望处理的蛋白质

我们将使用 [RCSB 蛋白质数据库](#) 下载 5URO，这是来自里氏木霉的可溶性环氧化物水解酶的结构。在 PDB 数据库的搜索栏中输入 PDB ID 进行查询：



② 下载 PDB 文件

单击实际条目，您将看到一个深蓝色的 **Download Files** 图标，单击它并选择 pdb 文件（Legacy PDB Format）

pdb 文件仅包含 5URO 的最低能量结构。同时它也包含了其标头信息。

③ 确定氨基酸残基、编号、特定原子等信息

右击 pdb 文件，将文本文档（记事本）作为打开方式并打开，下滑至第一列为“ATOM”的表格部分，此处呈现了该蛋白质结构的完整原子信息。

ATOM	1818	CB	HIS A 115	23.607	31.612	50.172	1.00	7.29	C
ATOM	1819	CG	HIS A 115	24.948	30.946	49.987	1.00	7.97	C
ATOM	1820	ND1	HIS A 115	25.780	30.629	51.048	1.00	8.53	N
ATOM	1821	CD2	HIS A 115	25.610	30.525	48.858	1.00	6.71	C
ATOM	1822	CE1	HIS A 115	26.888	30.103	50.531	1.00	7.14	C
ATOM	1823	NE2	HIS A 115	26.853	30.001	49.212	1.00	8.74	N
ATOM	1824	H	HIS A 115	24.808	33.178	48.569	1.00	0.00	H
ATOM	1825	HA	HIS A 115	22.638	33.508	50.544	1.00	0.00	H
ATOM	1826	HB3	HIS A 115	22.972	31.335	49.331	1.00	0.00	H
ATOM	1827	HB2	HIS A 115	23.146	31.158	51.046	1.00	0.00	H
ATOM	1828	HD1	HIS A 115	25.592	30.783	52.031	1.00	0.00	H
ATOM	1829	HD2	HIS A 115	25.292	30.573	47.828	1.00	0.00	H
ATOM	1830	HE1	HIS A 115	27.734	29.805	51.122	1.00	0.00	H
ATOM	1831	N	GLY A 116	24.333	33.025	52.668	1.00	7.03	N
ATOM	1832	CA	GLY A 116	25.271	33.090	53.784	1.00	6.76	C
ATOM	1833	C	GLY A 116	25.168	31.795	54.596	1.00	7.15	C
ATOM	1834	O	GLY A 116	25.071	30.714	54.019	1.00	7.17	O
ATOM	1835	H	GLY A 116	23.533	32.416	52.777	1.00	0.00	H
ATOM	1836	HA3	GLY A 116	25.076	33.970	54.387	1.00	0.00	H
ATOM	1837	HA2	GLY A 116	26.300	33.168	53.427	1.00	0.00	H
ATOM	1838	N	TRP A 117	25.246	31.918	55.930	1.00	7.29	N
ATOM	1839	CA	TRP A 117	25.242	30.827	56.908	1.00	7.35	C
ATOM	1840	C	TRP A 117	23.932	30.886	57.729	1.00	7.71	C
ATOM	1841	O	TRP A 117	23.506	31.989	58.071	1.00	7.57	O
ATOM	1842	CB	TRP A 117	26.460	31.040	57.834	1.00	6.75	C
ATOM	1843	CG	TRP A 117	26.717	29.959	58.845	1.00	6.44	C
ATOM	1844	CD1	TRP A 117	27.550	28.911	58.657	1.00	6.39	C
ATOM	1845	CD2	TRP A 117	26.079	29.733	60.144	1.00	6.17	C
ATOM	1846	NE1	TRP A 117	27.458	28.050	59.730	1.00	7.51	N
ATOM	1847	CE2	TRP A 117	26.548	28.490	60.667	1.00	6.15	C
ATOM	1848	CE3	TRP A 117	25.126	30.431	60.924	1.00	6.23	C
ATOM	1849	CZ2	TRP A 117	26.072	27.956	61.879	1.00	6.60	C

在该文本文档中，第三列“HA3”即为氨基酸残基的特定原子（The amino acid residue atom name 栏）；第四列即为该特定原子所指向的氨基酸类型（The amino acid residue name 栏）；第五列为肽链名称（Protein Chains 栏）；第六列为氨基酸编号（The amino acid residue numbers 栏）

④确定配体原子

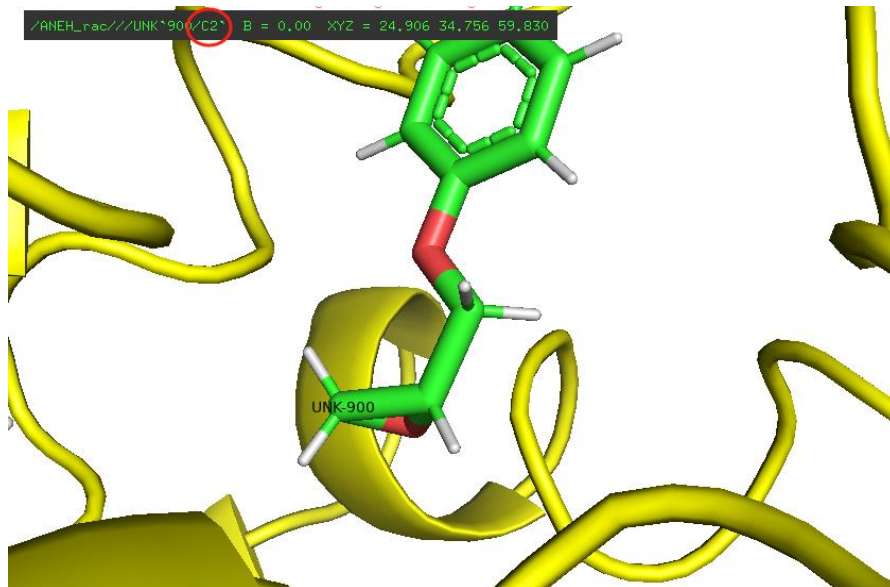
右击 pdb 文件，将文本文档（记事本）作为打开方式并打开，下滑至第一列为“HETATM”的表格部分，此处呈现了非蛋白质或核酸主链（杂原子）的完整原子信息，通常包括配体、离子、溶剂分子等。

ATOM	6242	HB2	TRP	A	396	19.043	46.284	35.012	1.00	0.00	H
ATOM	6243	HD1	TRP	A	396	18.613	46.101	31.283	1.00	0.00	H
ATOM	6244	HE1	TRP	A	396	20.647	44.989	30.205	1.00	0.00	H
ATOM	6245	HE3	TRP	A	396	21.765	46.104	35.325	1.00	0.00	H
ATOM	6246	HZ2	TRP	A	396	23.289	44.111	31.023	1.00	0.00	H
ATOM	6247	HZ3	TRP	A	396	24.026	45.106	35.151	1.00	0.00	H
ATOM	6248	HH2	TRP	A	396	24.785	44.095	33.002	1.00	0.00	H
TER	6249	TRP	A	396							
HETATM	6250	O1	UNK	900		24.881	34.612	61.232	1.00	0.00	O
HETATM	6251	O2	UNK	900		24.789	37.439	60.761	1.00	0.00	O
HETATM	6252	C1	UNK	900		23.757	35.233	60.659	1.00	0.00	C
HETATM	6253	C2	UNK	900		24.906	34.756	59.830	1.00	0.00	C
HETATM	6254	C3	UNK	900		23.561	36.733	60.933	1.00	0.00	C
HETATM	6255	C4	UNK	900		24.875	38.767	61.116	1.00	0.00	C
HETATM	6256	C5	UNK	900		26.107	39.377	60.883	1.00	0.00	C
HETATM	6257	C6	UNK	900		23.831	39.514	61.688	1.00	0.00	C
HETATM	6258	C7	UNK	900		26.313	40.708	61.231	1.00	0.00	C
HETATM	6259	C8	UNK	900		24.038	40.845	62.038	1.00	0.00	C
HETATM	6260	C9	UNK	900		25.278	41.437	61.811	1.00	0.00	C
HETATM	6261	H1	UNK	900		22.834	34.653	60.665	1.00	0.00	H
HETATM	6262	H2	UNK	900		24.793	33.849	59.232	1.00	0.00	H
HETATM	6263	H3	UNK	900		25.630	35.463	59.421	1.00	0.00	H
HETATM	6264	H4	UNK	900		22.817	37.135	60.243	1.00	0.00	H
HETATM	6265	H5	UNK	900		23.170	36.848	61.945	1.00	0.00	H
HETATM	6266	H6	UNK	900		26.908	38.808	60.435	1.00	0.00	H
HETATM	6267	H7	UNK	900		22.863	39.076	61.873	1.00	0.00	H
HETATM	6268	H8	UNK	900		27.271	41.173	61.052	1.00	0.00	H
HETATM	6269	H9	UNK	900		23.239	41.420	62.482	1.00	0.00	H
HETATM	6270	H10	UNK	900		25.439	42.469	62.084	1.00	0.00	H
TER	6271	UNK	900								
CONECT	6250	6252	6253								
CONECT	6251	6254	6255								

在该文本档中，第三列“C2”即为需要测量的反应物特定原子（Ligand atoms to be measured 栏）。

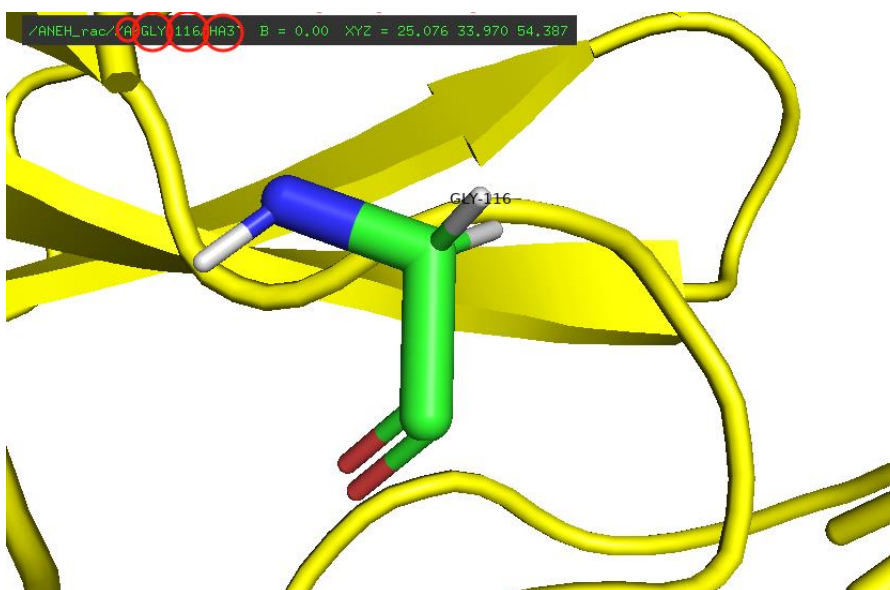
⑤通过 PyMOL 确定研究对象

打开 3D 可视化软件 PyMOL,找到配体分子并选中您希望研究的具体原子,软件所呈现的信息即为具体原子信息,您所需要填写的 Ligand atoms to be measured 栏在这里以红圈示出。



您同样也可以使用 PyMOL 来确定您所期望处理的氨基酸残基特定原子。

所需要填写的相关信息也已在图中以红圈示出，从左到右依次为：Protein Chains、The amino acid residue name、The amino acid residue numbers、The amino acid residue atom name 栏。



Output results and Feedback

在页面的最上方，您可以看到自己已提交的蛋白酶文件信息，包括 ID、Form Type、Protein、Ligand、Upload Time 等，并且您可以重新下载您所上传的 Protein

File 以及 Ligand File。当系统处理完毕时，输出结果 Result File 会返回至递交页面，点击 Download 即可下载，届时将通过自动发送邮件提醒您，烦请您抽空查阅邮箱，并重新回到本界面下载输出文件。基本结果如图所示：

NAC4ED

Your Uploaded Files

ID	Form Type	Protein	Ligand	Upload Time	Protein File	Ligand File	Result File
3	NAC4ED	Suro	sto	2025-03-12 19:34:38	Download	Download	Download

注：Result File 一栏显示 Not available 并不代表运行错误，仅是系统尚未计算完毕，请耐心等待！