

博士論文

新規な構造を有する糖質関連酵素の X 線結晶構造解析

平成 14 年度進学 日高 將文

指導教員 祥雲 弘文

目次

略語表		i
序章	糖質関連酵素	1
	表	9
	図	11
	引用文献	23
第1章	GH-42 好熱性細菌 <i>Thermus thermophilus</i> A4 由来 耐熱性β-ガラクトシダーゼの X 線結晶構造解析	25
	序	26
	実験の目的と方法	30
	結果と考察	49
	表	63
	図	78
	引用文献	121
第2章	GT-36 <i>Vibrio proteolyticus</i> 由来加リン酸分解酵素 キトビオースホスホリラーゼの X 線結晶構造解析	125
	序	126
	実験の目的と方法	132
	結果と考察	140
	表	153
	図	160

	引用文献	186
第3章	GH-94 <i>Cellvibrio gilvus</i> 由来加リン酸分解酵素 セロビオースホスホリラーゼの X 線結晶構造解析	189
	序	190
	実験の目的と方法	195
	結果と考察	202
	表	213
	図	218
	引用文献	255
	本研究で使用したプログラムおよび URL	259
	謝辞	263
	索引	265

略語表

A4-β-Gal	<i>Thermus thermophilus</i> A4 由来β-ガラクトシダーゼ
BCB	<i>Bacillus cereus</i> 由来β-アミラーゼ
bGA	<u>b</u> acterial <u>G</u> luco <u>A</u> mylase (細菌由来グルコアミラーゼ)
CAZy	<u>C</u> arbo <u>h</u> ydro <u>a</u> ctive <u>e</u> n <u>z</u> ymes (糖質関連酵素データベース)
CBP	<u>C</u> ello <u>B</u> iose <u>P</u> hosphorylase (セロビオースホスホリラーゼ)
CDP	<u>C</u> ello <u>D</u> extrin <u>P</u> hosphorylase (セロデキストリンホスホリラーゼ)
CE	<u>C</u> arbo <u>h</u> ydro <u>e</u> sterase (炭水化物エステラーゼ)
CgCBP	<i>Cellvibrio gilvus</i> 由来セロビオースホスホリラーゼ
CgCBP-PO₄	リン酸を沈殿剤として結晶化した CgCBP
CgCBP-SO₄	硫酸を沈殿剤として結晶化した CgCBP
ChBP	<i>Vibrio proteolyticus</i> 由来キトビオースホスホリラーゼ
CtCBP	<i>Clostridium thermocellum</i> YM4 由来セロビオースホスホリラーゼ
EC-β-Gal	大腸菌由来β-ガラクトシダーゼ
ESR	<u>E</u> lectron <u>S</u> pin <u>R</u> esonance
FOM	<u>F</u> igure <u>O</u> f <u>M</u> erit
Gal	ガラクトース
GH	<u>G</u> lycoside <u>H</u> ydrolase (糖質加水分解酵素)
Glc	グルコース
GlcN	グルコサミン
GlcNAc	N-アセチルグルコサミン
GT	<u>G</u> lycosyl <u>T</u> ransferase (糖転移酵素)
HCA	<u>H</u> ydrophobic <u>C</u> luster <u>A</u> nalysis
ICP	<u>I</u> nductive <u>C</u> oupled <u>P</u> lasma
IMAC	<u>I</u> mmobilized <u>M</u> etal-ion <u>A</u> ffinity <u>C</u> hromatography (固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィー)
IPTG	<u>I</u> so <u>P</u> ropyl 1- <u>T</u> hio-β-D- <u>G</u> alactoside
MAD	<u>M</u> ultiple wavelength <u>A</u> nomalous <u>D</u> ispersion (多波長異常分散)
MalP	<i>Lactobacillus brevis</i> 由来マルトースホスホリラーゼ
MPD	<u>M</u> ethyl <u>P</u> entan <u>D</u> iol
Native A4-β-Gal	セレノメチオニン置換体に対して、置換していない A4-β-Gal
Native ChBP	セレノメチオニン置換体に対して、置換していない ChBP
ONP-Gal	<u>o</u> - <u>N</u> itro <u>P</u> henyl β-D- <u>G</u> alactoside
PEG	<u>P</u> oly <u>E</u> thylene <u>G</u> lycol

PL	<u>P</u> olysaccharide <u>L</u> yase (多糖リアーゼ)
RMSD	<u>R</u> oot <u>M</u> ean <u>S</u> quare <u>D</u> istance
TIM バレル	<u>T</u> riose-phosphate <u>I</u> so <u>M</u> er <u>a</u> seバレル
TmCBP	<i>Thermotoga maritima</i> 由来セロビオースホスホリラーゼ
XAFS	<u>X</u> -ray <u>A</u> bsorption <u>F</u> ine <u>S</u> tructure
X-Gal	5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-Galactoside
Xyl	キシロース

序章 糖質関連酵素

序章 糖質関連酵素

1. 糖質

糖質は核酸、アミノ酸と並ぶ生体の重要な構成成分の一つである。糖質は $C_n(H_2O)_m$ の一般式で表される。糖質には単体である単糖、これらの数個(2~10)の縮合体であるオリゴ糖、さらに多数の単糖からなる多糖がある。単糖は不斉炭素原子を持つため多くの異性体が存在する。また環状構造を形成するため、 α -アノマーと β -アノマーの異性体が存在する(図 1)。多糖には構成糖の種類の違い、構成糖間の結合様式の違い、重合度の違いなどにより、極めて多種類のものがある。糖質の生体内における主な役割は生物の骨格形成、エネルギーの貯蔵・代謝、細胞認識などである。

2. 糖質の役割

骨格

糖質の役割の一つは、植物の細胞壁グリカンに代表される骨格の形成である。グルコース・キシロースが β -1,4 結合で重合したセルロース・キシランをはじめ、マンノースを主成分とするマンナン、N-アセチルグルコサミン・グルコサミンが重合したキチン、キトサンなどがある。セルロースは地球上で最も多い糖質で、植物体の約 1/3 を占めている。

エネルギーの貯蔵・代謝通貨

嫌気性・好気性を問わず、ほとんどの生物は解糖によるグルコースの酸化により、エネルギー(ATP)を合成する。解糖系はグルコースを出発物質として、グルコース-6-リン酸、フルクトース-6-リン酸、フルクトース-1,6-ビスリン酸を経て ATP を生成しつつピルビン酸にいたる。また多くの生物は、解糖系の逆反応である糖新生反応で、オキサロ酢酸からグルコースを生成し、グルコースが α -1,4 結合、 α -1,6 結合で重合したグリコーゲンやデンプンの形態でエネルギーを貯蔵している。

複合糖質

糖質はタンパク質や脂質と共有結合で結びついて複合糖質を形成する。複合糖質は、細胞表面で各種抗原決定基群を形成するほか、細胞間相互作用や、細胞の環境因子認識において重要な役割を持つと考えられている。近年、医療分野を中心に、複合糖質の機能に注目した薬品・食品の開発が注目されている。

3. 糖質構造の多様性

糖質は核酸やタンパク質と異なり、多様な構造が形成される。例えば、

ガラクトースとグルコースが重合した二糖の場合、ガラクトースはグルコースの O2、O3、O4、O6 位に結合できることから、4 つの異性体構造の可能性がある。また、ガラクトースは α -アノマーと β -アノマーの 2 種の立体配置をとるため、異性体の可能性は 8 つになる。さらに、ガラクトースはフラノース型、ピラノース型となり得るので、異性体の可能性は全部で 16 になる。三糖以上になると、分岐構造を形成しうるため、鎖長が長くなると、異性体の数は幾何級数的に増加する。

4. 糖質の合成

有機合成

糖質は多種多様かつ複雑な構造を持つため、DNA やペプチドのように、目的生成物をデザインし、簡単かつ高収率に合成できる方法は存在しない。糖質の一部は有機的に合成することが可能である。しかし、有機的な糖質合成の多くは、目的糖質の合成のために多段階の実験操作を必要とし、収率も高くないため、実用的な合成法としては不向きである。また医薬利用、食品利用を目指した糖質合成では、触媒として金属や有機溶媒を用いる合成法は好ましくない。

酵素合成

一般的な糖質合成法は、酵素を用いた方法である。図 2 に糖質の代謝を示した。酵素法による糖質合成の利点は、複雑な操作を必要としない反応制御の容易さと、目的生成物を高収率で合成できる反応特異性の高さである。近年、様々な糖質合成能を持つ酵素の探索が注目され、多くの研究機関が糖質の分解、合成に関わる酵素(糖質関連酵素)を探索している。

5. 糖質関連酵素

糖質に作用する酵素は古細菌から哺乳類に至るまで全ての生物が保持しており、その数は数万種類に上る。B. Henrissat らは、糖質関連酵素を以下の 4 つのクラスに分類した(表 1)[1-6]。

糖質加水分解酵素 (EC3.2.1.-)

糖質加水分解酵素(Glycoside Hydrolase; 以下GHと表記する)は、糖-糖間のグリコシド結合、または糖-非糖間のグリコシド結合を加水分解する(図 3)。12000 以上の遺伝子が分類される糖質関連酵素最大のクラスである。

GH の反応は、反応系に多量に存在する水のために、分解方向の不可逆反

序章 糖質関連酵素

応であるものが多い。GHのうち、逆反応の糖質合成反応を触媒するものをトランスグリコシダーゼと呼ぶ。糖転移酵素(グリコシルトランスフェラーゼ)との違いは、反応にリン酸や核酸ではなく、水分子が関与している点である。

糖転移酵素 (EC2.4.x.y)

糖供与体の糖を特異的な糖受容体に転移し、新たなグリコシド結合を作り出す酵素を糖転移酵素(GlycosylTransferase; 以下GTと表記する)と呼ぶ(図4)。約10000種類の遺伝子が分類されている。糖供与体は、糖-リン酸、糖-ヌクレオチドの高エネルギーリン酸結合を持つ糖リン酸化合物で、全て α -アノマー構造(axial結合)を持つ。GTの反応は、この高エネルギー結合のため、合成方向の不可逆反応となる。

GTの糖供与体は、単糖のリン酸化合物である。二糖またはオリゴ糖を転移するものは、トランスグリコシダーゼとして扱われる。

多糖リアーゼ (EC4.2.2.-)

多糖リアーゼ(Polysaccharide Lyase; 以下PLと表記する)は、糖鎖を β -脱離機構で分解し、新たにできた非還元末端に二重結合を導入する(図5)。

炭水化物エステラーゼ

炭水化物エステラーゼ(Carbohydrate Esterase; 以下CEと表記する)は、O-アセチル基、またはN-アセチル基を脱離する反応を触媒する(図6)。

以上4つのクラスのうち、本研究は、主に糖質の合成・分解に関わるGH、GTを対象とした。

6. 糖質関連酵素のアミノ酸配列に基づく分類

ファミリー分類

GH、GTの酵素は、IUB-MB(International Union of Biochemistry and Molecular Biology)による酵素命名法に従って命名されている(例; α -アミラーゼ、 β -ガラクトシダーゼなど)。しかし、この命名法は基質特異性に基づいたものであり、酵素の反応機構や特徴を反映していない。そのため、B. Henrissatらは、糖質関連酵素をアミノ酸配列に基づいて"ファミリー"に分類した[1-6]。この分類法により同一ファミリーに分類される酵素は、以下のような特徴があると考えられる。

- ・同一ファミリーに分類される酵素は、同様の立体構造を持つ。
- ・同一ファミリーに分類される酵素は、進化的に関連がある。

・同一ファミリーに分類される酵素は、同様の反応機構を示す。

GHのファミリー分類

GHはGH-1からGH-99までのファミリーに分類されている(2005年1月現在)。このうち、GH-21、GH-40、GH-41、GH-60は、一度酵素が分類されたものの、他のファミリーとの関連が明らかになり再分類されたことから、欠番となっている。

GTのファミリー分類

GTはGT-1からGT-77までのファミリーに分類されている(2005年1月現在)。このうちGT-36は、本研究の結果からGH酵素との進化的・機能的関連が明らかになり、GHに再分類されたため欠番となった(第2章)。

7. GH、GTの反応機構

GHとGTは、基質と生成物のアノマーの関係から、アノマー保持型、反転型に分類される。これらの反応は、以下のように一般化された反応機構で説明される[7, 8]。

アノマー保持型の反応機構 (図 7)

GH、GTいずれも2つの酸性残基がそれぞれ酸/塩基触媒、求核性触媒残基として働く。アノマー保持型機構の反応機構は、

1. 求核性触媒によるグリコシド結合の攻撃、酸触媒によるプロトンの供与が起こる。
2. 求核性触媒と糖が共有結合を形成するアシル酵素中間体構造ができる。
3. 塩基触媒が脱プロトン化することで活性化した分子(GHの場合は水分子、GTの場合は糖鎖)がアシル酵素中間体に対し求核攻撃する。
4. 糖が解離し反応が完了する。

アノマー保持型の反応機構は、二回の求核攻撃が起こるため、Double Displacement 機構とも呼ばれる。

GHでは糖アナログである2-F-グリコシド化合物を用いたアシル酵素中間体のX線結晶構造解析や、質量分析の結果から、アシル酵素中間体の存在が証明された[9, 10]。

アノマー反転型の反応機構 (図 8)

GH、GTいずれも2つの酸性残基がそれぞれ一般酸触媒、一般塩基触媒

序章 糖質関連酵素

として働く。アノマー反転型の反応機構は、

1. グリコシド結合に対し、一般酸触媒がプロトンを供与、一般塩基触媒による脱プロトン化で活性化した分子(GHの場合は水分子、GTの場合は糖鎖)が求核攻撃する。
2. 糖は、オキソカルボニウムイオンと呼ばれる中間体構造を経て、アノマーが反転する。

アノマー反転型の反応機構は、一回の置換で反応が進むため、**Single Displacement** 機構とも呼ばれる。

本研究では、一般塩基触媒がなくとも、活性化状態にあるイオン(リン酸)が直接オキソカルボニウムイオン中間体を攻撃する加リン酸分解の反応機構を明らかにした(第2章)。

その他の反応機構

立体構造の解明や反応特異性の解析から、上記の2種の反応機構では説明できない反応機構が存在する。

・GH-18 (図 9)

GH-18 は N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)のポリ多糖・キチンに作用するキチナーゼが分類される。このファミリーに分類される酵素はアノマー保持型の反応機構を示すが、基質のアセトアミド基が触媒反応に関与する機構が提唱されている[11]。

・GH-38

GH-38 は α -マンノシダーゼが分類される。このファミリーの触媒反応には金属イオンの存在が必須である[12]。

・GT-35

GT-35 はグリコーゲンホスホリラーゼが分類される。その反応機構はピリドキサルリン酸が関与する(第2章、図 2-3)[13-16]。

この他、上記の反応機構では説明することができないファミリーは、GH-4、19、23、24、43、47、48、67、88 などがある。また、GT の反応機構は、立体構造情報も少なく、未知な部分が多い。

8. 糖質関連酵素の構造と分類

近年多くの GH、GT ファミリーの立体構造が明らかになってきた。その結果、異なる機能を持つファミリー間の分子進化的な関連が明らかになってきた。

GHの構造分類(Clan)

GH-1~99から欠番の4つのファミリーを除く95のGHファミリーのうち、約50のファミリーで立体構造が明らかになっている。GH酵素のフォールドはTIMバレルフォールドが最も多いが、その他にもJelly rollフォールド、 $(\alpha/\alpha)_6$ バレルフォールドなど多様なフォールドが見られる(図10)。しかし、フォールドの種類はアミノ酸配列ほどの多様性を示さず、いくつかのファミリーで共通のフォールドを持つことが分かってきた。これら共通のフォールドに基づいた分類を"Clan"と呼ぶ。ClanはGH-AからGH-Nに分類される(表2)。同一Clanに分類されるものは、

- ・同じフォールドの触媒ドメインをもつ。
- ・反応機構が同じである。
- ・作用する基質のグリコシド結合が同じである。
- ・触媒残基が同じである。
- ・触媒残基の位置が立体構造上、またアミノ酸配列上同じである。

例えば、GH最大のClanであるClan GH-Aは

- ・触媒ドメインはTIMバレルフォールドを持つ。
- ・反応機構はアノマー保持型である。
- ・いずれも β -グリコシド結合に作用する。
- ・触媒残基は2つのグルタミン酸である。
- ・触媒残基はTIMバレルフォールドを形成する4番目と7番目の β -シートのC末端にある。

同一Clanに分類されるファミリーは分子進化的に関連のあるファミリーであると考えられる[3, 17]。

GTの構造とClan分類

77のGTファミリーのうち約20のファミリーの立体構造が明らかになっている。これらのファミリーのフォールドは、GHほど多様性を示さず、全てGT-AまたはGT-Bどちらかのフォールドを持っている(図11)。GT-A、GT-Bフォールドであることとアノマー保持型、反転型であることは関係ない。構造予測の結果から、GT酵素ファミリーのうち、少なくとも半分はGT-AまたはGT-Bのフォールドを持つと考えられている[18]。

GTもまた、立体構造に基づいてClanに分類される。GTのClanは、GT-A・GT-Bのフォールド、アノマー反転型・保持型で区別され、4つのClan(Clan I-IV)

に分類される(図 12) [5]。

9. 糖質関連酵素データベース CAZy

糖質関連酵素のアミノ酸配列に基づいたファミリー分類、構造に基づいたClan分類は、B. Henrissat博士らが管理するデータベースCAZy (Carbohydrate Active enZymes)で取りまとめられている(<http://afmb.cnrs-mrs.fr/CAZY/>)[4]。

10. 糖質関連酵素の構造解析の意義

近年、立体構造の決定や構造予測により、全く異なる機能を有するファミリー間で、立体構造の相同性が見出されてきた。そのため構造未知ファミリーの立体構造を解明することは、そのファミリー内の酵素のみならず、類似構造を有する多くのファミリーに対しても分子進化、触媒反応、基質認識機構などの新たな構造的知見を与えることが期待されている。特に機能的に有用な酵素は、タンパク質工学的手法による酵素の改良、応用のために立体構造の情報は必要不可欠であり、その解明が期待されている。

本研究は、構造未知の糖質関連酵素ファミリー

- ・GH-42 に分類される耐熱性 β -ガラクトシダーゼ(第 1 章)
- ・GT-36 に分類される加リン酸分解酵素(第 2、3 章)

を対象として X 線結晶構造解析を行い、触媒機構、基質特異性に関する構造的知見の獲得を目指した。

触媒能による分類 (Class)	立体構造に基づく分類 (Clan)	一次構造に基づく分類 (Family)
糖質加水分解酵素 (Glycoside Hydrolase: GH)	GH-A ~ GH-N	GH-1 ~ GH-99 (GH-21,40,41,60 は欠番)
糖転移酵素 (GlycosylTransferase: GT)	GT-I ~ GT-IV	GT-1 ~ GT-77 (GT-36 は欠番)
多糖リアーゼ (Polysaccharide Lyase: PL)	-	PL-1 ~ PL-15
炭水化物エステラーゼ (Carbohydrate Esterase: CE)	-	CE-1 ~ CE-14

(2005年1月現在)

表 1 糖質関連酵素の分類

Clan	フォルド	ファミリー
GH-A	TIM バレル	1, 2, 5, 10, 17, 26, 30, 35, 39, 42, 50, 51, 53, 59, 72, 79, 86
GH-B	β -jelly roll	7, 16
GH-C	β -jelly roll	11, 12
GH-D	TIM バレル	27, 36
GH-E	6-fold β -プロペラ	33, 34, 83
GH-F	5-fold β -プロペラ	43, 62
GH-G	-	37, 63
GH-H	TIM バレル	13, 70, 77
GH-I	α/β	24, 46, 80
GH-J	5-fold β -プロペラ	32, 68
GH-K	TIM バレル	18, 20
GH-L	$(\alpha/\alpha)_6$ バレル	15, 65
GH-M	$(\alpha/\alpha)_6$ バレル	8, 48
GH-N	β -ヘリックス	28, 49

表 2 GH の Clan 分類

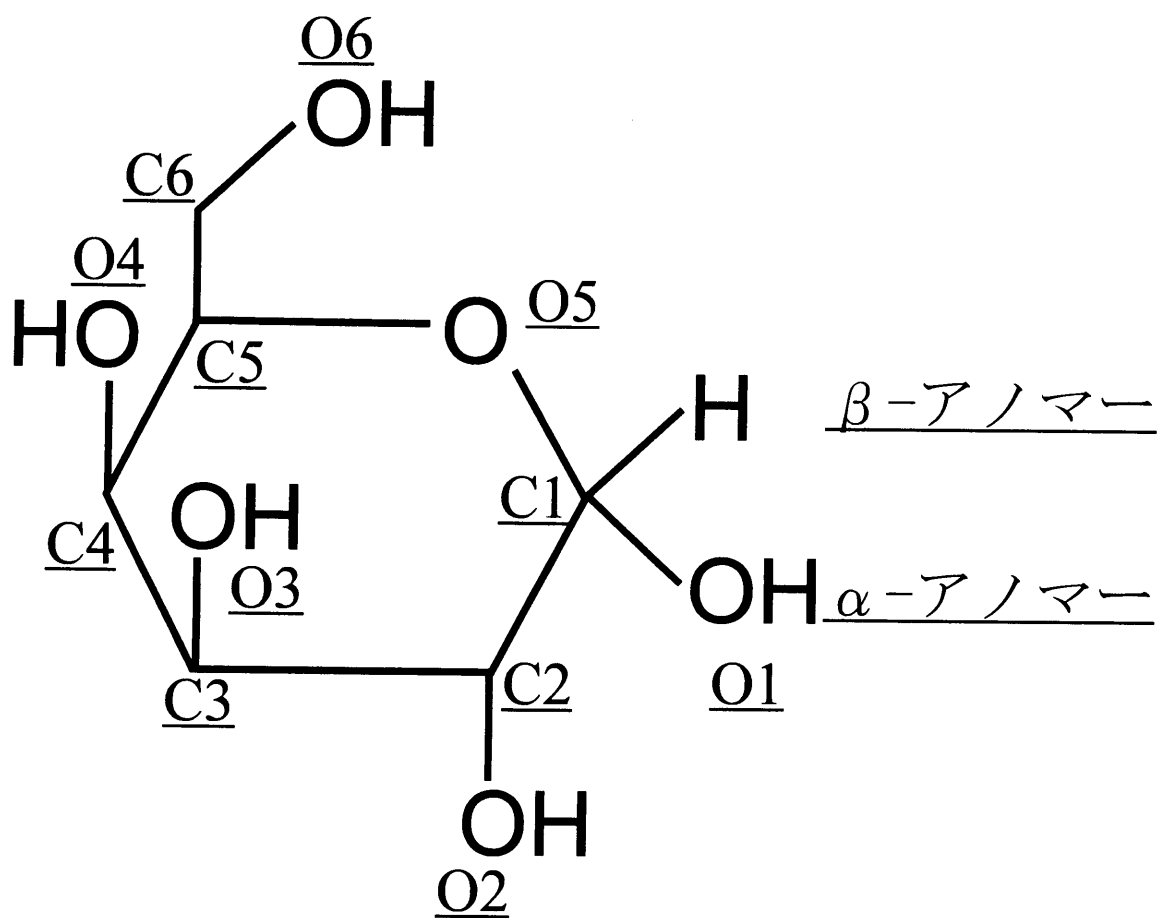


図1 単糖の構造(図は α -ガラクトピラノース)。
 本研究では各原子を下線で示した名称で表記する。

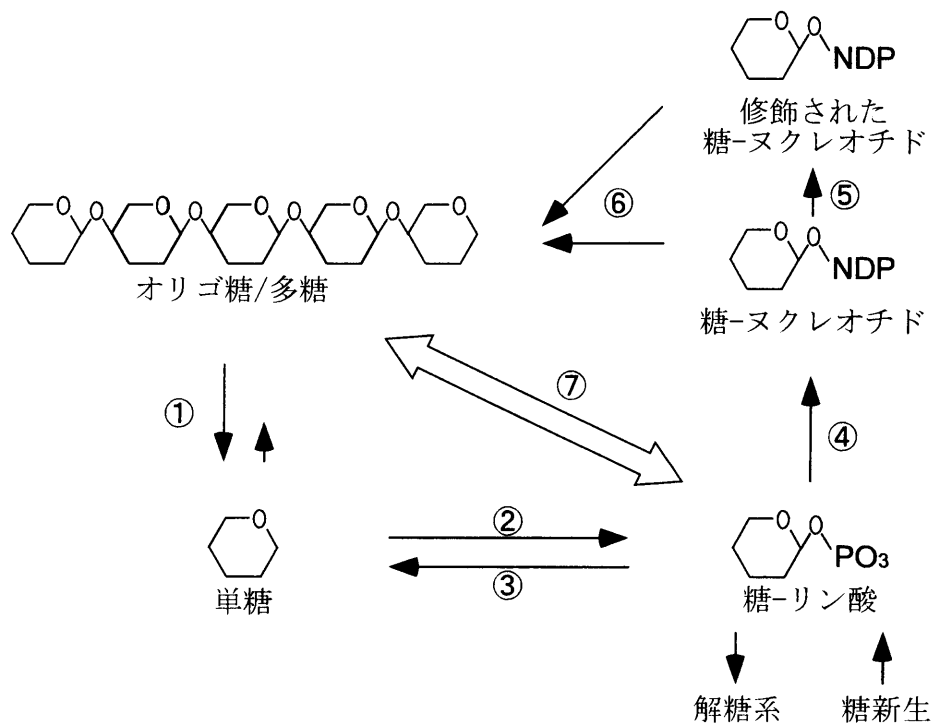


図2 糖質の代謝

① 糖加水分解酵素 (GH)

② キナーゼ

③ ホスファターゼ

④ ピロホスホリラーゼ

(ピロホスホリラーゼで合成される糖-ヌクレオチドは、グルコース-、マンノース-、N-アセチルグルコサミン-ヌクレオチドなどに限られる)

⑤ エピメラーゼ・脱水素酵素・脱炭酸酵素など

⑥ 糖転移酵素 (GT)

⑦ 加リン酸分解酵素

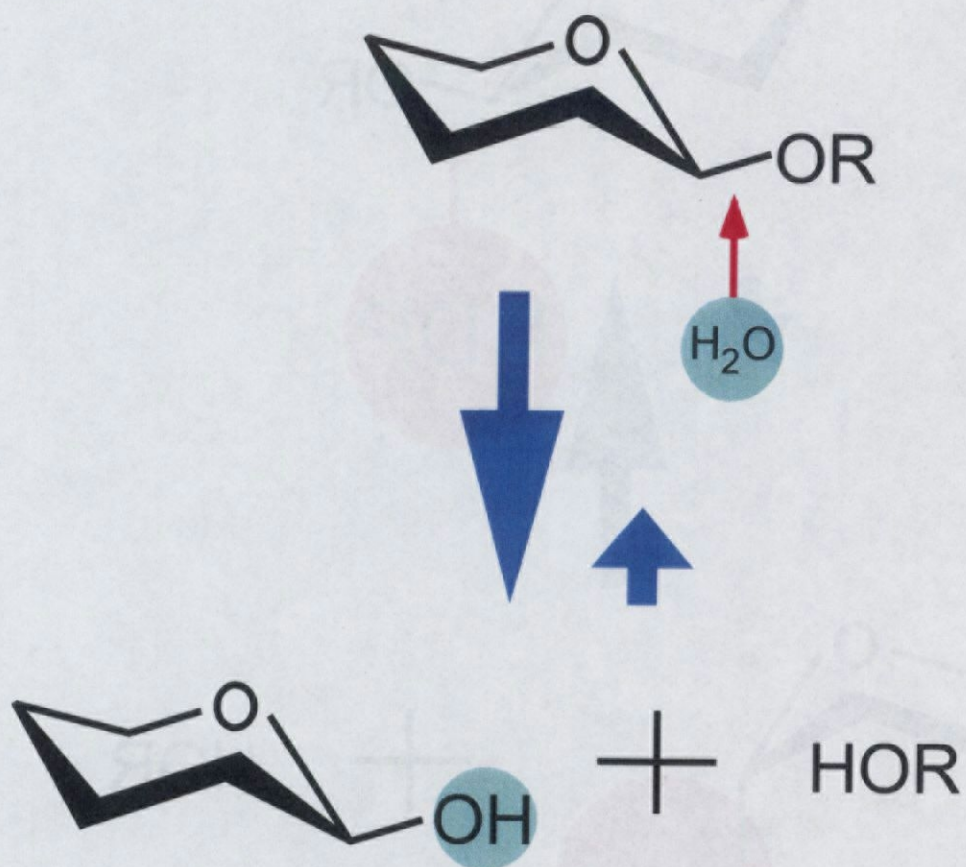


図3 糖質加水分解酵素(GH)の反応

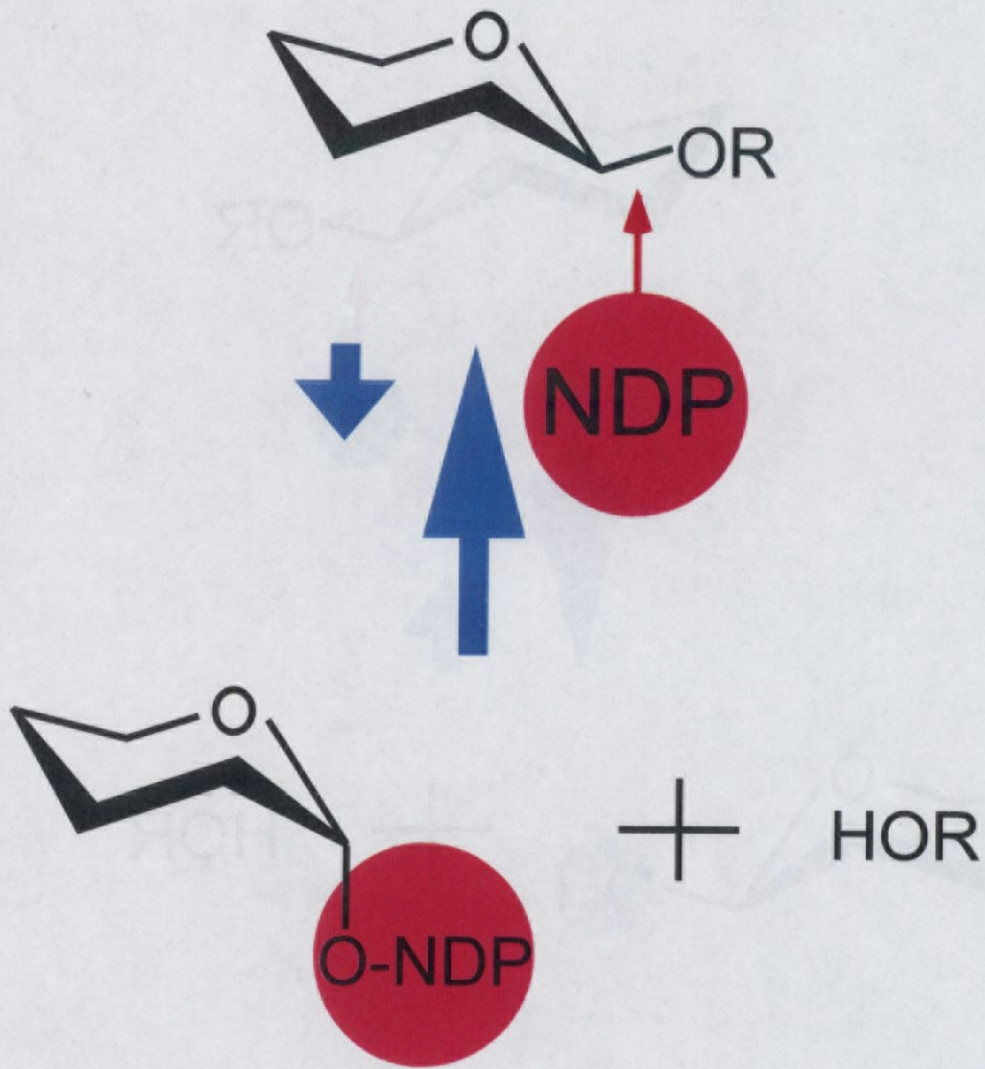


図4 糖転移酵素(GT)の反応

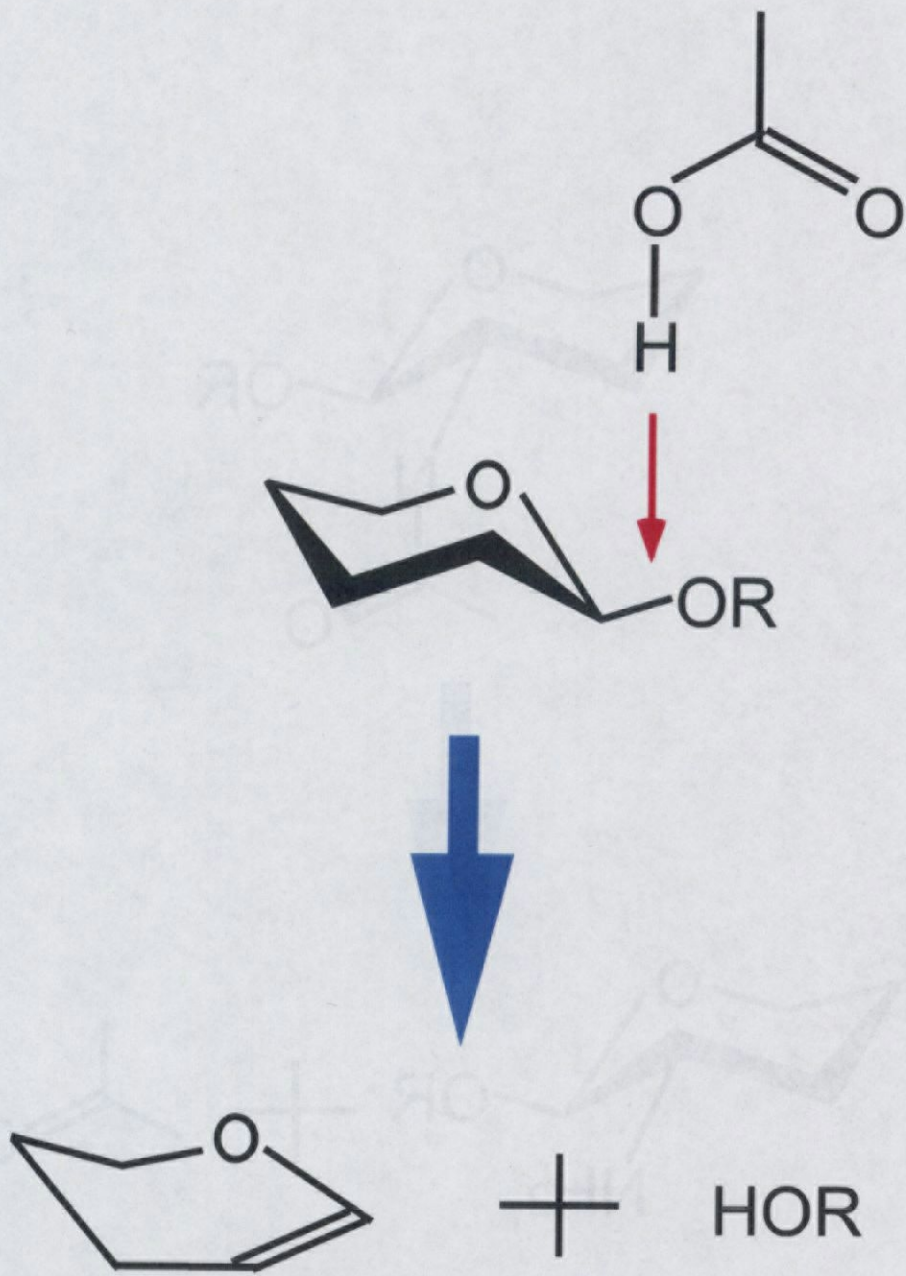


図5 多糖リアーゼ(PL)の反応

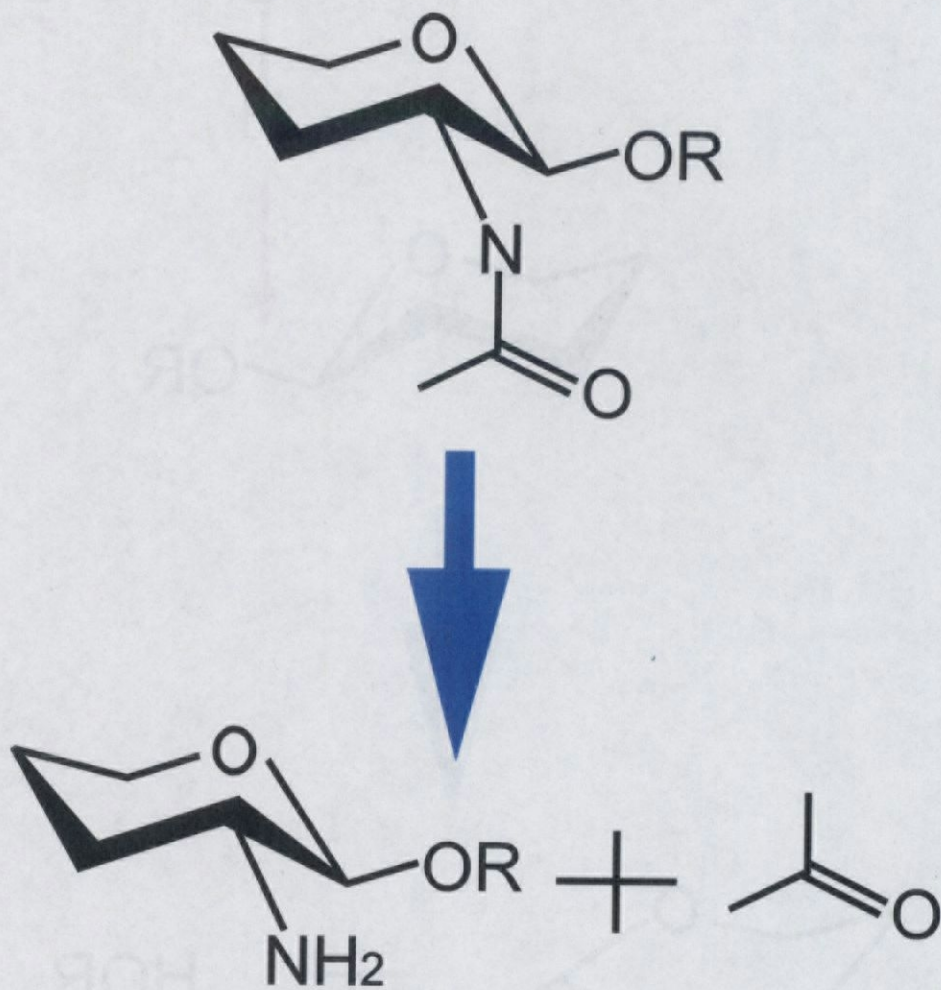


図6 炭水化物エステラーゼ(CE)の反応

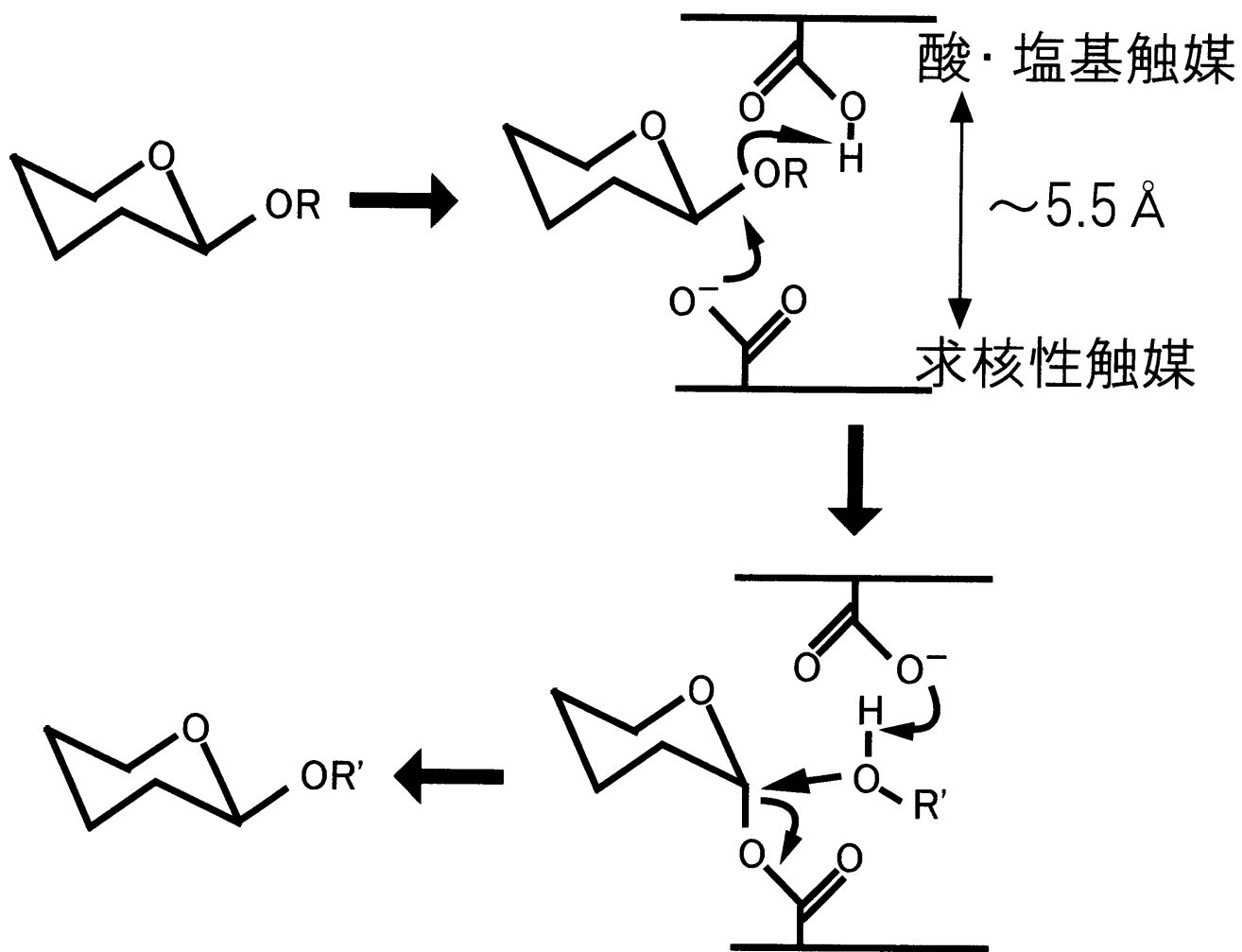


図7 アノマー保持型機構。

GHは $R' = H$ 。

GTは $R = \text{ヌクレオチド/リン酸}$ 、 $R' = \text{糖}$ 。

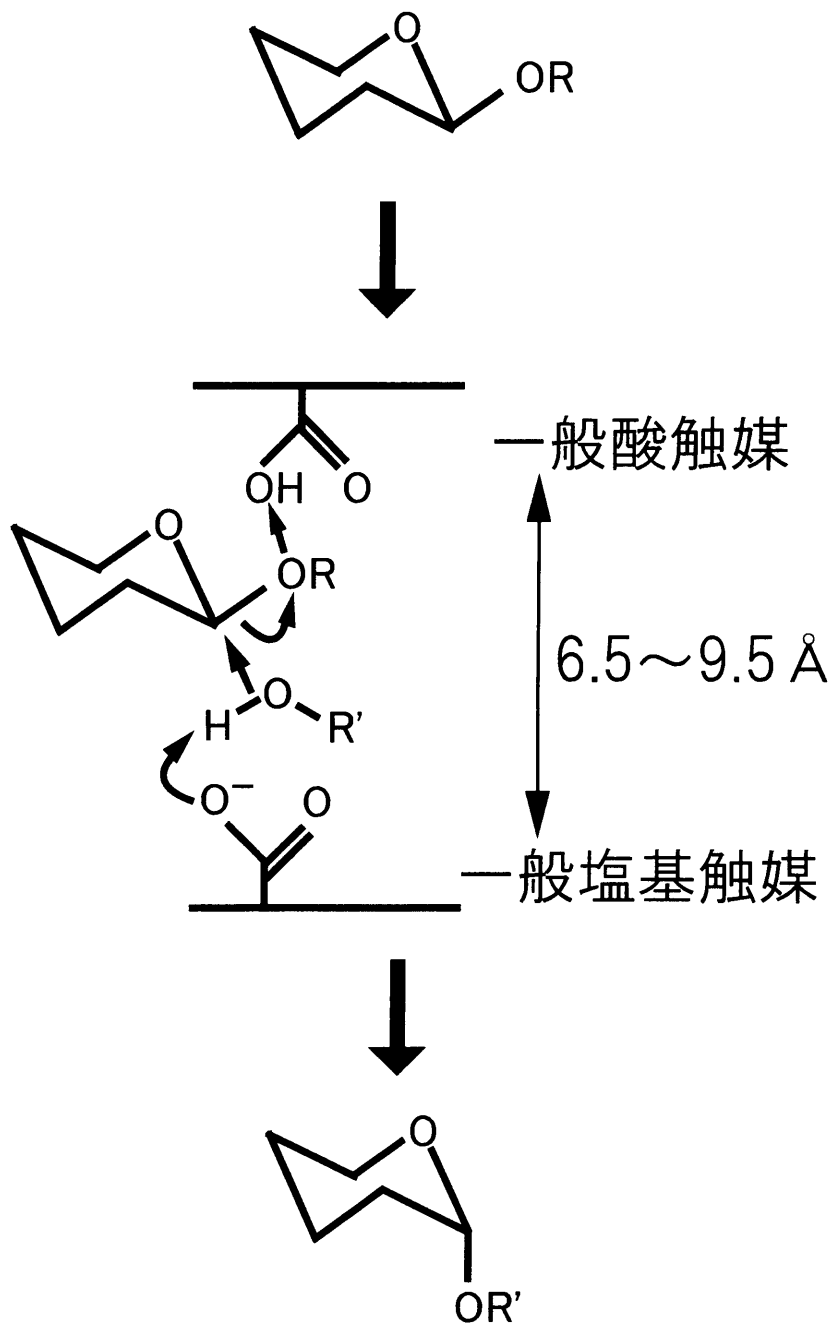


図8 アノマー反転型機構。

GHは $R' = H$ 。

GTは $R = \text{ヌクレオチド/リン酸}$ 、 $R' = \text{糖}$ 。

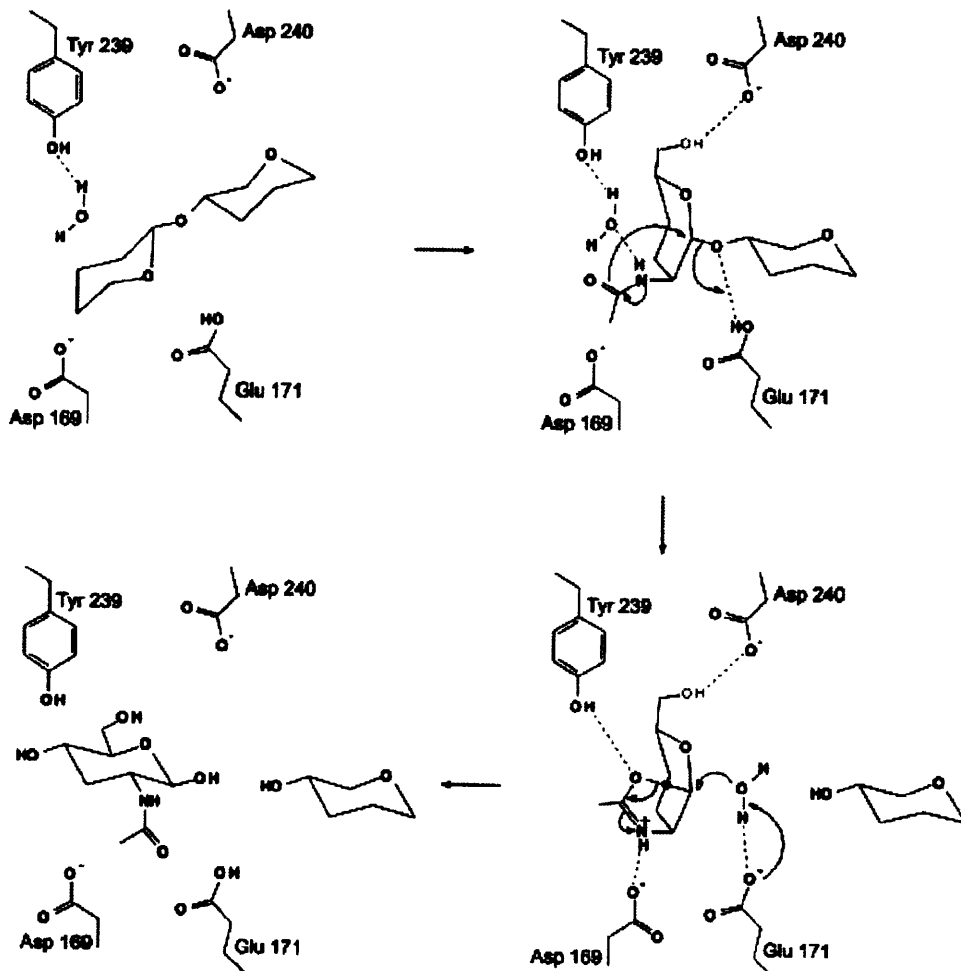


図9 糖質関連酵素の特殊な反応機構の例。GH-18キチナーゼは2位のアセトアミド基が触媒反応に関与する([16]より抜粋)。

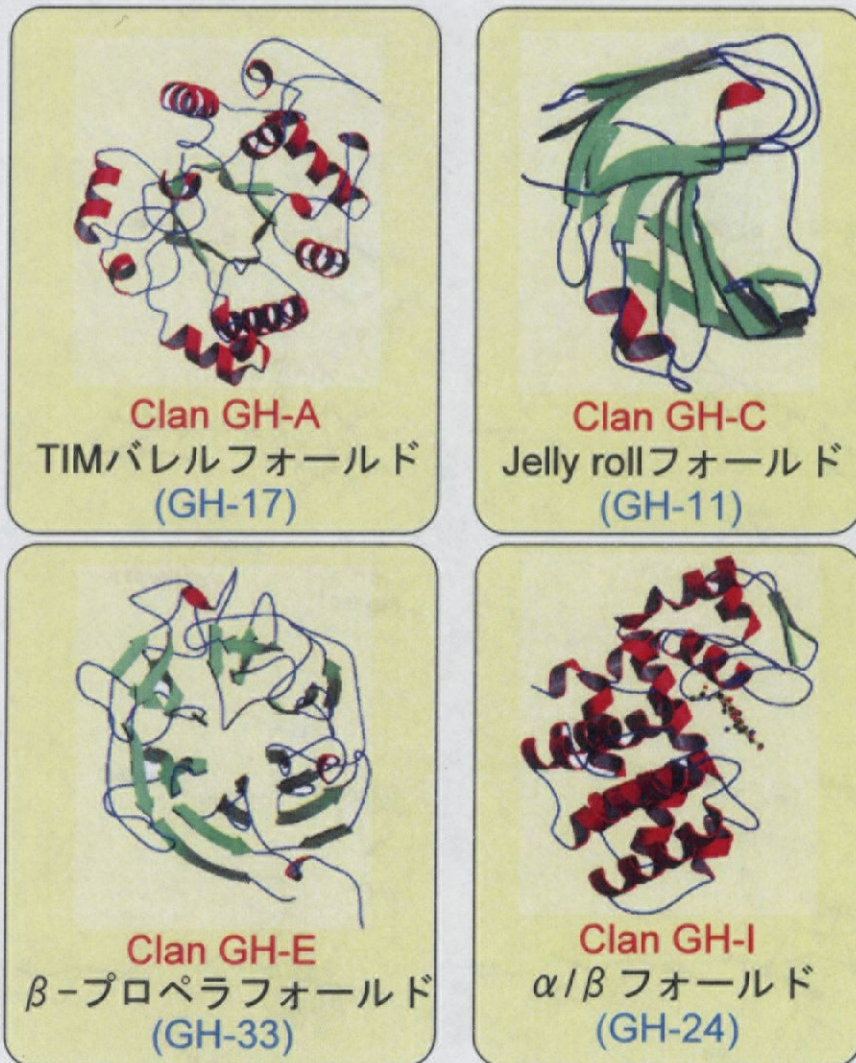


図10 GHの多様なフォールド

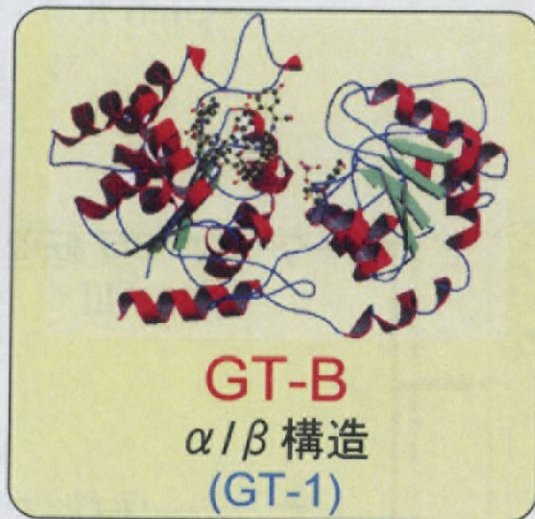


図11 GTに見られるフォールドGT-A(上段)とGT-B(下段)

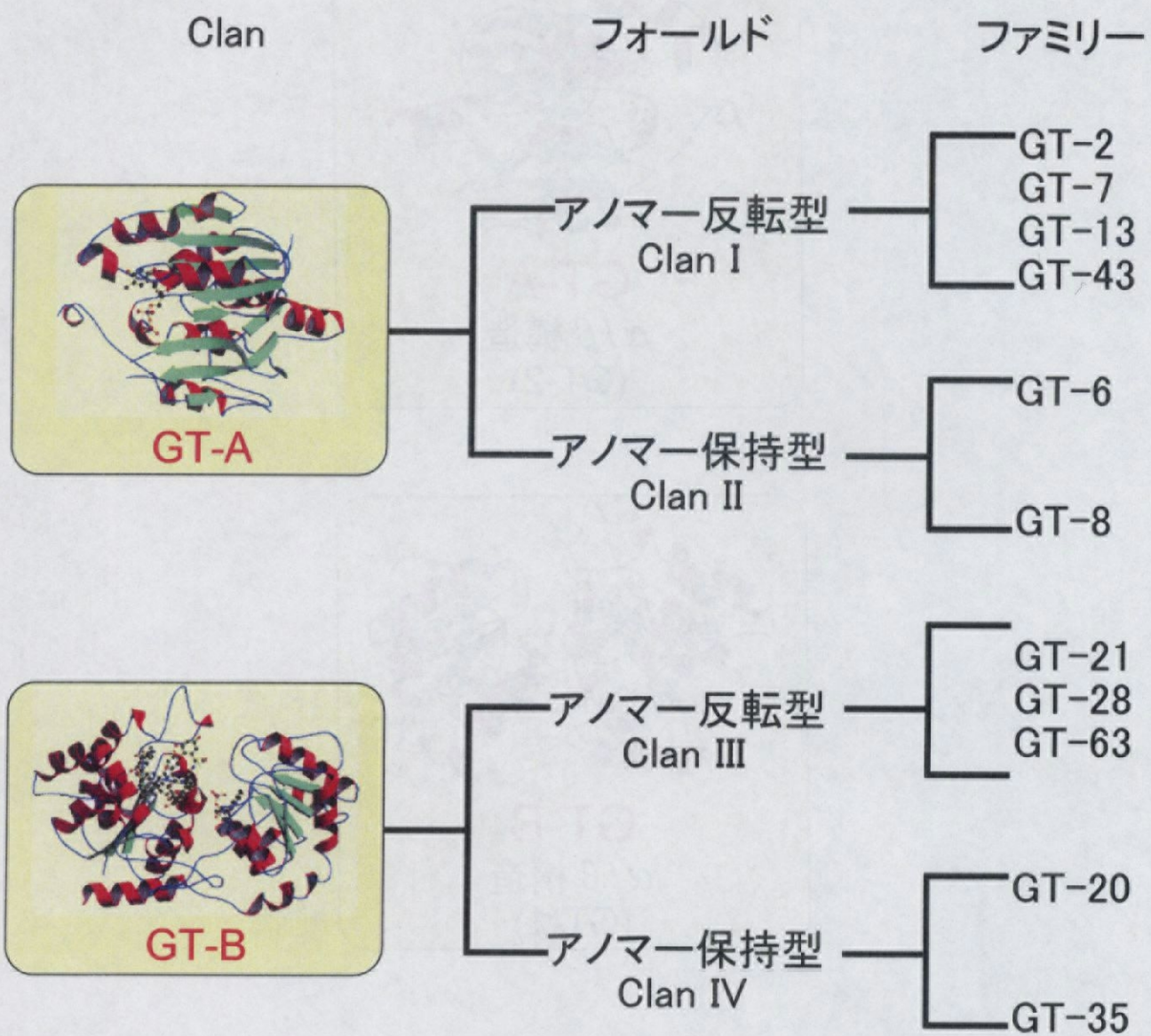


図12 GTのClan分類[5]

序章の引用論文

1. Henrissat, B., A Classification of Glycosyl Hydrolases Based on Amino-Acid-Sequence Similarities. *Biochemical Journal*, 1991. **280**: p. 309-316.
2. Henrissat, B. and A. Bairoch, New Families in the Classification of Glycosyl Hydrolases Based on Amino-Acid-Sequence Similarities. *Biochemical Journal*, 1993. **293**: p. 781-788.
3. Henrissat, B. and A. Bairoch, Updating the sequence-based classification of glycosyl hydrolases. *Biochemical Journal*, 1996. **316**: p. 695-696.
4. Coutinho, P.M. and B. Henrissat, Carbohydrate-active enzymes: an integrated database approach. In "Recent Advances in Carbohydrate Bioengineering" (Gilbert, H.J., Davies, G., Henrissat, B., and Svensson, B., eds). *The Royal Society of Chemistry, Cambridge*, 1999: p. 3-12.
5. Coutinho, P.M., et al., An evolving hierarchical family classification for glycosyltransferases. *Journal of Molecular Biology*, 2003. **328**(2): p. 307-317.
6. Campbell, J.A., et al., A classification of nucleotide-diphospho-sugar glycosyltransferases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal*, 1997. **326**: p. 929-939.
7. Davies, G. and B. Henrissat, Structures and Mechanisms of Glycosyl Hydrolases. *Structure*, 1995. **3**(9): p. 853-859.
8. McCarter, J.D. and S.G. Withers, Mechanisms of Enzymatic Glycoside Hydrolysis. *Current Opinion in Structural Biology*, 1994. **4**(6): p. 885-892.
9. Imamura, H., et al., Identification of the catalytic residue of *Thermococcus litoralis* 4- α -glucanotransferase through mechanism-based labeling. *Biochemistry*, 2001. **40**(41): p. 12400-12406.
10. Vocadlo, D.J., et al., Catalysis by hen egg-white lysozyme proceeds via a covalent intermediate. *Nature*, 2001. **412**(6849): p. 835-838.
11. Bortone, K., et al., The structure of an allosamidin complex with the *Coccidioides immitis* chitinase defines a role for a second acid residue in substrate-assisted mechanism. *Journal of Molecular Biology*, 2002. **320**(2): p. 293-302.
12. Numao, S., et al., Insights into the mechanism of *Drosophila melanogaster* Golgi alpha-mannosidase II through the structural analysis of covalent reaction intermediates. *Journal of Biological Chemistry*, 2003. **278**(48): p. 48074-48083.
13. Watson, K.A., et al., Phosphorylase recognition and phosphorolysis of its oligosaccharide substrate: answers to a long outstanding question. *EMBO Journal*, 1999. **18**(17): p. 4619-4632.

14. O'Reilly, M., K.A. Watson, and L.N. Johnson, The crystal structure of the *Escherichia coli* maltodextrin phosphorylase-acarbose complex. *Biochemistry*, 1999. **38**(17): p. 5337-5345.
15. O'Reilly, M., et al., Oligosaccharide substrate binding in *Escherichia coli* maltodextrin phosphorylase. *Nature Structural Biology*, 1997. **4**(5): p. 405-412.
16. Geremia, S., et al., Enzymatic catalysis in crystals of *Escherichia coli* maltodextrin phosphorylase. *Journal of Molecular Biology*, 2002. **322**(2): p. 413-423.
17. Henrissat, B., et al., Conserved Catalytic Machinery and the Prediction of a Common Fold for Several Families of Glycosyl Hydrolases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995. **92**(15): p. 7090-7094.
18. Franco, O.L. and D.J. Rigden, Fold recognition analysis of glycosyltransferase families: further members of structural superfamilies. *Glycobiology*, 2003. **13**(10): p. 707-712.