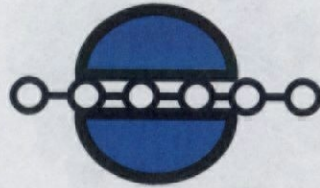
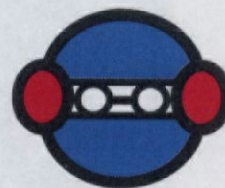
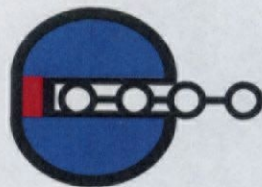


図 1-30 A4-β-GalとEC-β-Galの基質認識残基の比較。
EC-β-Galは基質の認識に金属の関与が見られる。



クレフト型TIMバレルフォールド
エンド型加水分解酵素に見られる



ポケット型TIMバレルフォールド
基質を非還元末端側から加水分解する
エキソ型加水分解酵素や、鎖長の
短い糖鎖の加水分解酵素に見られる

図 1-31 活性中心部位の形状と基質特異性の関係 [32]

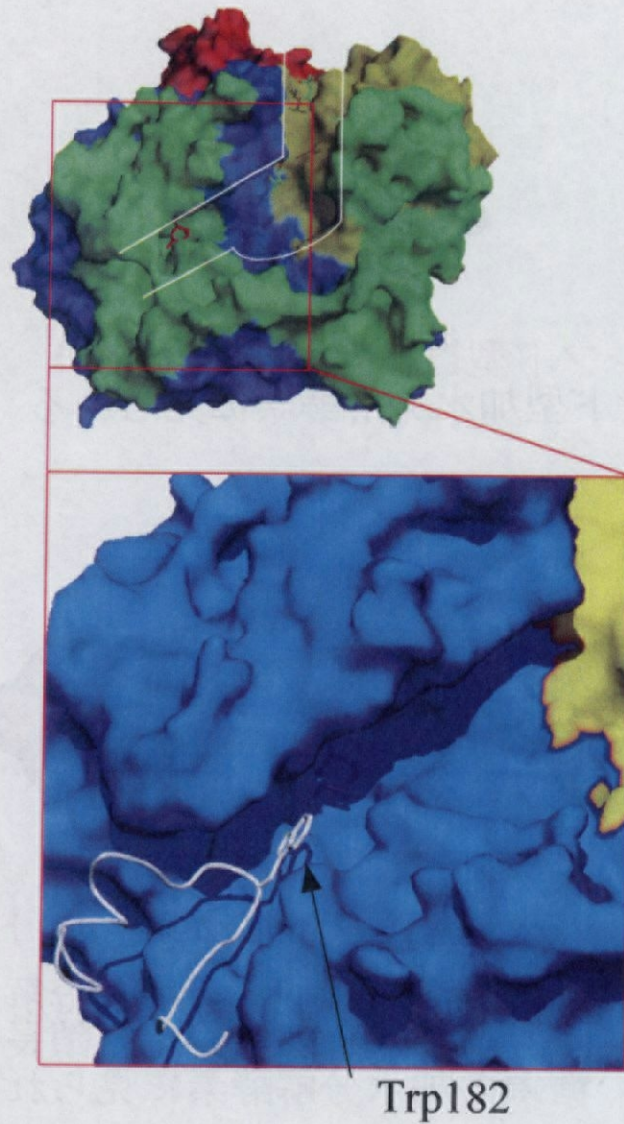


図 1-32a A4- β -Galのポケット型活性中心部位形成。単量体ではクレフト型の活性中心部位であるが、三量体の形成で隣のサブユニットのTrp182を含むループがクレフトの端を塞ぎ、ポケット化している。

クレフト型

ポケット型

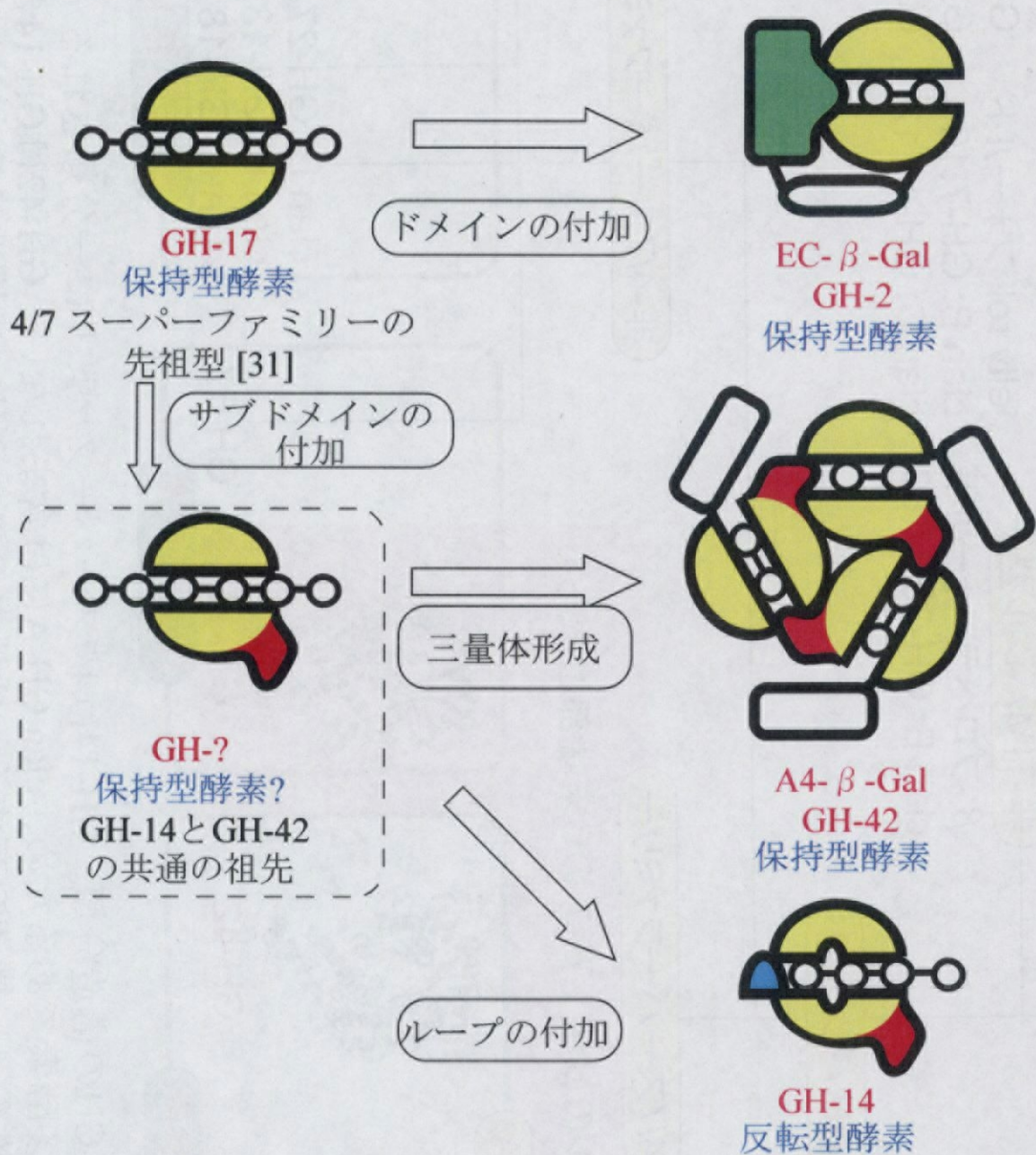


図 1-32b ポケット型活性中心部位獲得の分子進化モデル。
Juers[32]の提唱したモデルにA4-β-Galを組み込んだ。

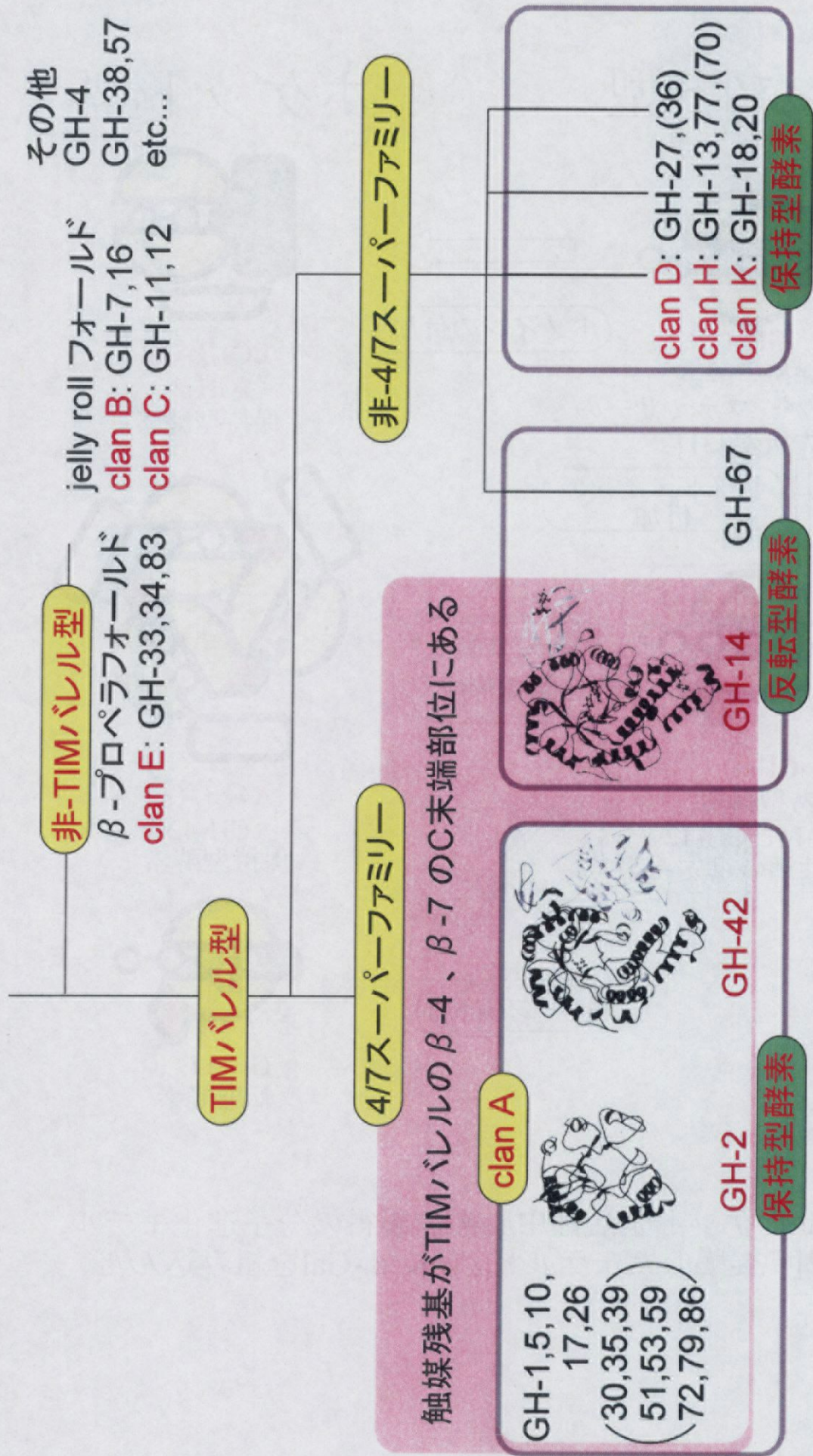


図 1-33 GHの構造分類。GH-14は4/7スーパーファミリーに一分類されるが、反転が多酵素であるため、clan GH-Aには含まれない。GH-42はGH-14と最も相同性の高い構造を有する。括弧内のファミリーは構造予測により各clanに分類されているもの。

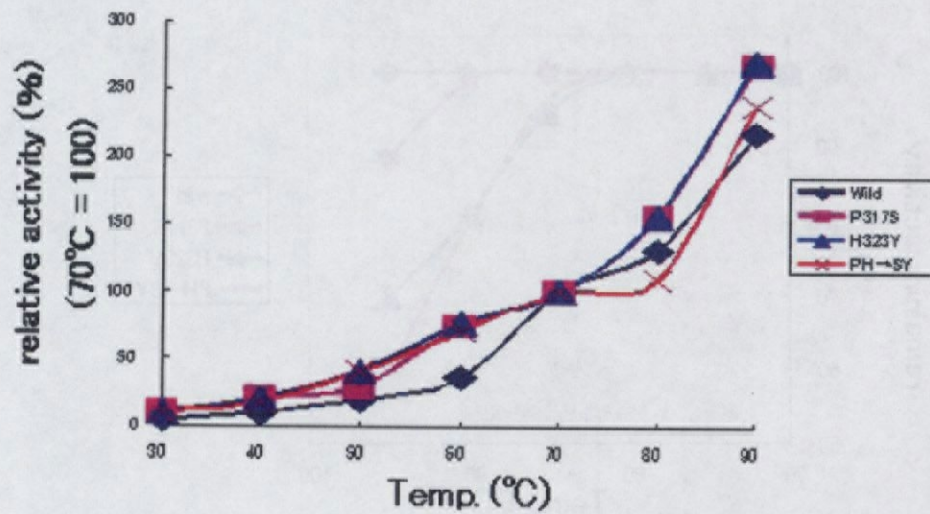


図 1-34 変異体 A4-β-Gal の ONP-Gal 加水分解活性の至適温度

70°C の時の活性を 100 とした相対活性を示した。

野生型、変異体ともに高温ほど活性が高い。

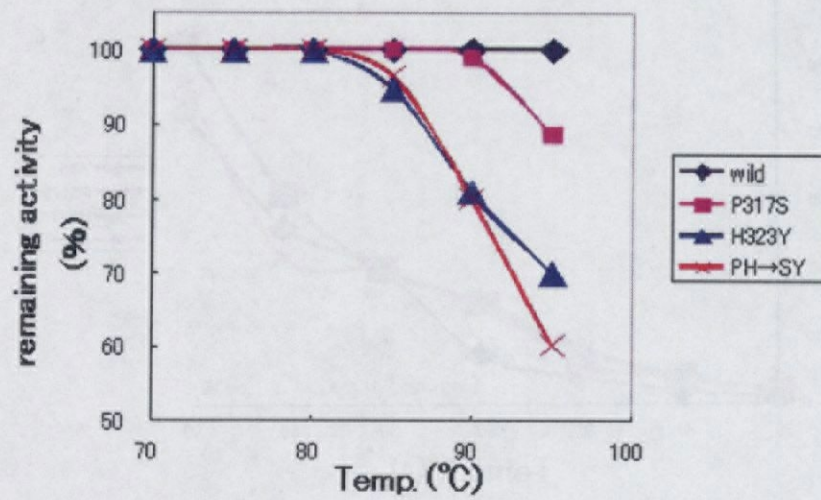


図 1-35 変異体 A4- β -Gal の耐熱性。各温度で 30 分間熱処理した後の残存相対活性。変異体 A4- β -Gal は耐熱性の低下が見られる。

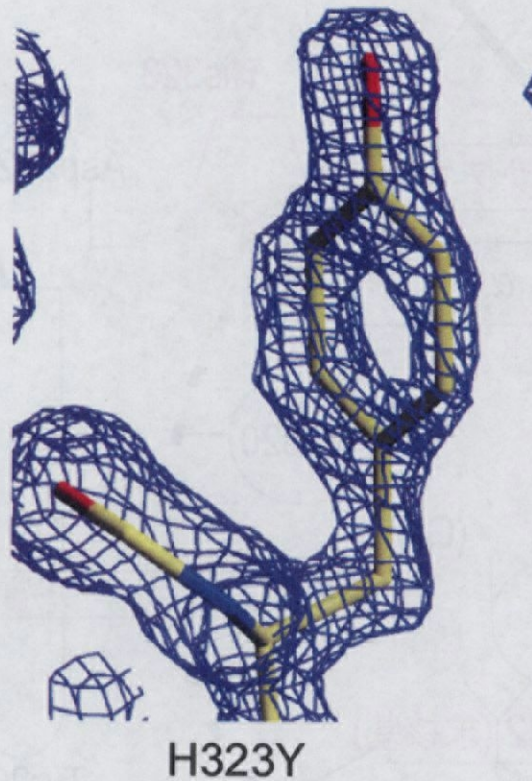
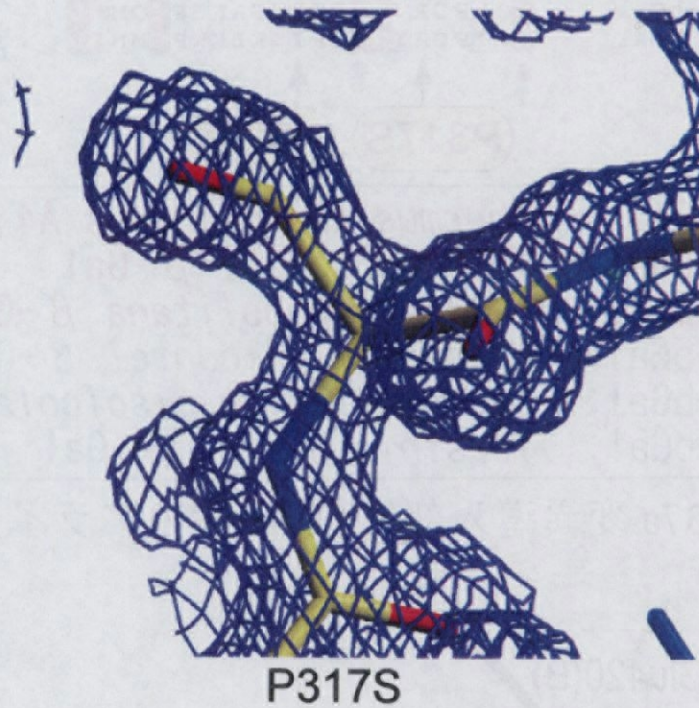


図 1-36 変異型A4- β -Galの変異導入部位の $2|F_{\text{obs}}| - |F_{\text{calc}}|$ 電子密度マップ(分解能1.8 Å、 1σ)。変異が導入されたことが確認できた。