

# 目錄

中文摘要.....	i
英文摘要.....	ii
謝誌.....	iii
目錄.....	iv
表目錄.....	viii
圖目錄.....	viii
第一章 緒論.....	1
1-1 半纖維素水解酵素群.....	1
1-2 阿拉伯呋喃糖苷酵素( $\alpha$ -L-arabinofuranosidase).....	7
1-3 阿拉伯呋喃糖苷酵素反應機制的研究.....	8
第二章 實驗方法.....	10
2-1 $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 的純化.....	10
2-1-1 一般敘述.....	10
2-1-2 純化步驟.....	10
2-1-3 酵素對 PNPAF 的活性.....	11
2-1-4 決定蛋白質分子量與純度.....	11
2-2 芳香類- $\alpha$ -L-阿拉伯糖苷化合物受質的合成.....	13
2-2-1 一般敘述.....	13
2-2-2 1-methyl-L-arabinofuranoside (MAF) 的合成.....	14
2-2-3 1-methyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-L-arabinofuranoside (MTBAF)	

	的合成.....	14
2-2-4	1-methyl-2,3,5-tri- <i>O</i> -acetyl- <i>L</i> -arabinofuranoside (MTAAF) 的合成.....	15
2-2-5	1-bromo-2,3,5-tri- <i>O</i> - benzoyl - <i>L</i> -arabinofuranoside (BTBAF) 的合成.....	16
2-2-6	2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-4-nitro-phenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabinofuranoside (TBPNPAF)的合成.....	17
2-2-7	2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-aryl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabinofuranoside 的合成 (TBCNPAF、TBMNPAF、TBDNPAF 的合成).....	17
2-2-8	2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-cyano-phenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabinofuranoside 2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoyl-phenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabinofuranoside (TBCPAF、TBPAF)的合成.....	18
2-2-9	Phenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabiofuranoside、 p-Cyano-phenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabiofuranoside、 m-Nitro-phenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabiofuranoside、 p-Nitro-pheynl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabiofuranoside、 4-Chloro-2-nitro-phenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabiofuranoside (PAF、PCPAF、MNPAF、PNPAF、CNPAF)的合成.....	19
2-2-10	2,3,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,5-dinirophenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabinofuranoside (TADNPAF)的合成.....	20
2-2-11	2-2-112,5-dinitro-phenyl- $\alpha$ - <i>L</i> -arabinofuranoside (DNPAF) 的合成.....	21
2-3	阿拉伯呋喃糖苷酵素抑制劑的合成.....	22
2-3-1	1,2-epoxy-3-( $\alpha$ - <i>L</i> -arabinofuranosyl)propane (EAFP) 的合	

成.....	22
2-4 酵素反應機制之研究.....	24
2-4-1 酸鹼度對酵素活性之影響.....	24
2-4-2 共同反應中間體.....	24
2-4-3 酵素 $k_{cat}$ 、 $K_m$ 以及 Brønsted plot 的研究.....	25
2-4-4 抑制劑之研究.....	27
第三章 結果與討論.....	29
3-1 芳香類- $\alpha$ -L-阿拉伯糖苷化合物受質的合成.....	29
3-2 $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 的純化.....	35
3-2-1 $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 之純化.....	35
3-2-2 $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 純度及分子量.....	36
3-3 酵素反應機制之研究.....	37
3-3-1 酸鹼度對酵素活性之影響.....	37
3-3-2 共同反應中間體 (common intermediate).....	39
3-3-3 催化速率決定步驟之探討.....	43
3-3-4 抑制劑之研究.....	53
第四章 結論.....	58
第五章 參考文獻.....	60

# 附錄

附錄一.....	I
附錄二.....	V
附錄三.....	VI
附錄四.....	XXXVII
附錄五.....	XXXVIII
附錄六.....	XXXIX
附錄七.....	XLIII



## 表目錄

表 1、與異質性木聚醣水解相關的酵素.....	6
表 2、各受質進行轉醣反應之反應條件.....	25
表 3、受質合成反應條件.....	31
表 4、轉醣反應之重要胺基酸 NMR 積分訊號.....	40
表 5、 $k_{cat}$ 、 $K_m$ 以及 Brønsted plot 數據.....	47
表 6、突變株酵素酵素活性.....	47
表 7、突變株 D299G $k_{cat}$ 、 $K_m$ 以及 Brønsted plot 數據.....	47

## 圖目錄

圖 1-1、 <i>o</i> -acetyl-4- <i>o</i> -methylglucuronoxylan (hardwood xylan)的組成..	3
圖 1-2、arabino-4- <i>o</i> -methylglucuronoxylan (softwood xylan)的組成.....	4
圖 1-3、(A)木聚醣水解酵素群 (B)水解木聚寡糖的木糖苷酵素.....	5
圖 1-4、阿拉伯聚醣主要結構.....	7
圖 1-5、家族 54 $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 推測的反應機制途徑.....	9
圖 3-1、受質合成策略.....	29
圖 3-2、arabinofurnisidase 經 SP 陽離子交換樹脂管柱層析圖.....	35
圖 3-3、arabinofuranosidase 純化之 SDS-PAGE 分析圖.....	36
圖 3-4、酸鹼值對 arabinofuranosidase 酵素活性之影響.....	38
圖 3-5、經由共同反應中間體之推測反應途徑.....	39
圖 3-6、產物 30°C NMR 光譜圖.....	41
圖 3-7、 $\alpha$ -L-arabinofuranosidase 推測的反應機制及其過渡態之結構.....	42

圖 3-8、Brønsted plot $\log k_{\text{cat}}$ 對受質離去基 $\text{pK}_a$ 作圖.....	48
圖 3-9、Brønsted plot $\log k_{\text{cat}}/K_m$ 對受質離去基 $\text{pK}_a$ 作圖.....	49
圖 3-10、 $\log K_m$ 對受質離去基 $\text{pK}_a$ 作圖.....	50
圖 3-11、酸鹼值對 D299N 突變酵素活性之影響.....	51
圖 3-11、酸鹼值對 E223Q 突變酵素活性之影響.....	52
圖 3-13、EAFP 隨時間變化對酵素之抑制作用.....	55
圖 3-14、EAFP 和 CNPAF 之間的抑制關係.....	55
圖 3-15、兩類 arabinofuranosidase 不可逆抑制劑.....	54
圖 3-16、(A) 家族 51 之結構圖 (B) 家族 54 之結構圖.....	57

