## 第四章 結論

- 1. wild type 及 D299G 的溶劑同位素效應實驗結果,提供另一證據支持 在 WT 中 D299 扮演一般酸/鹼基的功能。
- 2. E223G 之活性約為 wild type 之 5%,且不具有轉糖之功能,顯示其催化機制與 wild type 不同,可能為構型反轉之機制。
- 3.E223G/D191N與E223G/D191G之活性值( $K_{cat}/K_{m}$ )僅為E223G的 0.09%-4.0%,表示D191可能是一重要胺基酸
- 4. E223G之pH profile 研究顯示其催化能力由兩pKa所調控(pKa<sub>1</sub>=1.6 和 pK<sub>a2</sub>=3.9) 此與WT (pKa<sub>1</sub>=1.8 和pK<sub>a2</sub>=5.15) 不同
- 5. E223G/D191G的pK<sub>a2</sub>約為 5.56,並且沒有pK<sub>a1</sub>,這證明D191 可能是
  一般鹼 (general base)。
- E223G/D299N活性值(*k<sub>cat</sub>*/*K<sub>m</sub>*) 降為wild type的 0.12%, E223G的
  2.8%, 這說明D299 不僅在wild type之中,同時也在E223G中是一重要胺基酸殘基。
- 7. E223G/D299N酵素的p*K*<sub>a1</sub>約為 2.5~3.0 之間,並且沒有p*K*<sub>a2</sub>,這證明 D299 在E223G中可能是一般酸 (general acid)。