

Zusammenfassung

Die Mitglieder der Glycosylhydrolase-Familie 4 (GH4) stellen eine ungewöhnliche Gruppe von Glycosidasen dar, da sie für vollständige Aktivität NAD^+ , divalente Metallionen und reduzierende Bedingungen benötigen. Darüber hinaus ist diese Familie einzigartig, weil sie sowohl Mitglieder mit α - als auch mit β -Spezifität bzgl. der Konfiguration am anomeren Zentrum der hydrolysierten Substrate umfasst. Die α -Glucosidase A, AglA, aus dem Organismus *Thermotoga maritima* ist ein repräsentatives Mitglied dieser Familie, da es NAD^+ , divalente Metallionen und stark reduzierende Bedingungen benötigt. Diese Arbeit stellt die Kristallstrukturen des Apo-Proteins, verfeinert zu einer Auflösung von 1.8 Å, und von AglA im Komplex mit NAD^+ und Maltose, verfeinert zu einer Auflösung von 1.9 Å, vor. Sie zeigen, dass das NAD^+ -Molekül gebunden an eine typische NAD-Bindungstasche einer Rossmann-Faltung vorliegt und dass die Nicotinamid-Gruppe nahe dem Maltosemolekül positioniert ist. Die Lagen des konservierten Cys174 und benachbarter konservierter Histidin-Reste legen nahe, dass sie eine Rolle in der Hydrolyse-Reaktion spielen. Frühere biochemische Arbeiten an AglA zeigten, dass das gereinigte Protein nur eine niedrige Aktivität aufweist, die aber durch Zugabe von Reduktionsmitteln in hohen Konzentrationen für kurze Zeit partiell wieder hergestellt werden kann. Die Elektronendichtekarten zeigen, dass Cys174 zur Sulfinsäure oxidiert vorliegt. Sehr wahrscheinlich sind die stark reduzierenden Bedingungen daher nötig, um die oxidierte Cystein-Seitenkette wieder zu reduzieren. Bemerkenswerterweise findet sich im aktiven Zentrum von AglA nicht der für andere Glycosidasen typische, kanonische Satz von zwei sauren katalytischen Resten, was auf einen für Glycosylhydrolasen ungewöhnlichen Reaktionsmechanismus hinweist. Außerdem zeigt AglA keine strukturelle Ähnlichkeit zu anderen charakterisierten Glycosidasen, wohl aber hohe strukturelle Homologie zu NAD-abhängigen Dehydrogenasen. Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie wird daher vorgeschlagen, dass die GH4-Familie einen neuen Strukturklan der Glycosylhydrolasen konstituiert.