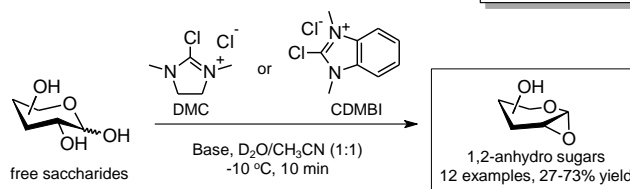
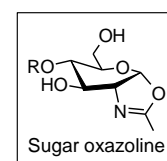
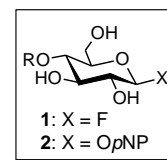




# 1,2-アンヒドロ糖をドナー基質とする新規酵素的グリコシル化反応の開発 Development of Novel Enzymatic Glycosylation Reaction using 1,2-Anhydro Sugars as Donor Substrate

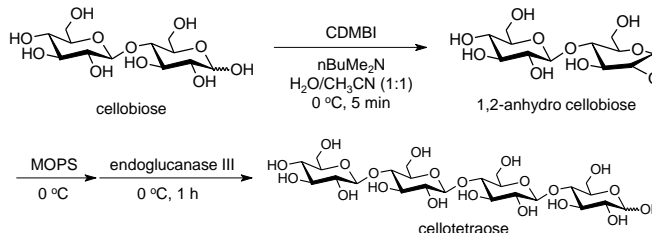
芹澤 一成, 野口 真人, 正田 晋一郎 (東北大学大学院工学研究科)

酵素的グリコシル化反応は穏和な条件下で進行し、位置・立体選択性に優れているため、糖質合成における最重要反応に位置付けられている。グリコシル化反応の基質はアノマー炭素に脱離基を導入して活性化させた糖ドナーが長年主流であり、酵素反応においてはフッ化グルコシル(e.g., **1**)や *p*-ニトロフェニルグリコシド(e.g., **2**)等が汎用されてきた。一方、当研究室によって、環状糖化合物の一種である糖オキサゾリンが酵素的グリコシル化反応において非常に有用な基質であることが報告され、一躍脚光を浴びるようになった。このような背景から、同じく環状糖化合物である 1,2-アンヒドロ糖も酵素的グリコシル化反応への利用が期待されてきたが、6 員環と 3 員環が縮環し高度に歪んだ 1,2-アンヒドロ糖の合成はこれまで達成されていなかった。この課題に対し、我々は近年独自に開発した水溶性脱水縮合剤による遊離糖の一段階誘導体化法<sup>1), 2)</sup>を応用することにより、各種 1,2-アンヒドロ糖が水-アセトニトリル混合溶媒中、低温にて中程度の収率で生成することを見出した(Scheme 1)。



**Scheme 1** Direct conversion of free saccharides to 1,2-anhydro sugars.

次に、我々は酵素的グリコシル化反応への展開を図ったが、基質である 1,2-アンヒドロ糖の安定性が乏しく、単離・精製することができなかった。そこで、1,2-アンヒドロ糖の形成反応が水系溶媒中で進行する点に着目し、引き続き酵素反応をワンポットで行うこととした。本研究では、1,2-アンヒドロセロビオースを基質とし、セルラーゼ系の酵素を中心に糖転移活性を示す酵素を探索した。原料のセロビオースを、上述の手法に従い 0°C で 1,2-アンヒドロ糖へと変換し、MOPS を添加して反応溶液の pH を弱酸性域に下げた後、即座に酵素を添加して反応を追跡した。粗酵素スクリーニングの結果、*Aspergillus sp.*由来の endoglucanase III(Novozymes 社)に明確な糖転移活性が認められ、糖転移生成物として四糖のセロテトラオースが得られた(Scheme 2)。次に、この粗酵素から糖転移活性を示す酵素タンパク質を精製し、トリプシン消化後、NanoLC-MS/MS および Mascot Search によりタンパク質を同定した。解析結果をもとに、川口剛司教授ならびに炭谷順一准教授(大阪府大)から御供与いただいた酵素を用いて糖転移活性の有無を検証した結果、同様に 1,2-アンヒドロセロビオースを基質としたグリコシル化反応が進行することを確認した。ポスター発表では、エポキシ化反応と酵素的グリコシル化反応の条件検討の結果ならびに基質適用性についてそれぞれ詳細に報告する。  
<参考文献>



**Scheme 2** Cellulase-catalyzed enzymatic glycosylation reaction using 1,2-anhydro cellobiose as a glycosyl donor.

1) M. Noguchi, T. Tanaka, H. Gyakushi, A. Kobayashi, S. Shoda, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 2210.

2) M. Noguchi, T. Fujieda, W. C. Huang, M. Ishihara, A. Kobayashi, S. Shoda, *Helv. Chim. Acta.*, **2012**, 95, 1928.

## 発表者紹介

氏名 芹澤一成 (せりざわかずなり)  
所属 東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻  
学年 博士課程後期 3 年  
研究室 正田研究室

