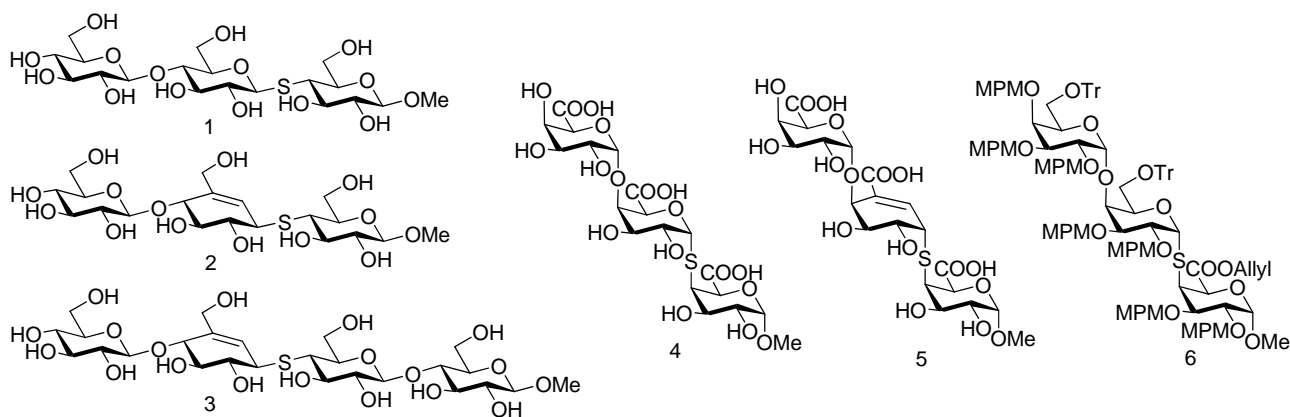


セルラーゼ及びガラクトツロナーゼ推定反応遷移状態アナログの合成研究

○野口翔悟・山本和範・橋本勝（弘前大学農学生命）

木材、わらなどに広く分布するセルロースからグルコースを経由したエタノール製造は、トウモロコシなど可食材と競争することがないため理想的なバイオエタノール製造法となる。また時に果汁の粘性を高くするペクチンを分解するガラクトツロナーゼは、ジュース等の製造過程で利用されている。我々は、これらエンド型糖加水分解酵素の高機能化に向けた反応機構解明のための分子プローブの開発を目指し、以下の糖鎖アナログを合成した。セルラーゼとして熱等に安定な *Humicola insolens* 由来の **endoglucanase V** を用いた。本酵素の基質最小単位は3量体であることからセロトリオースアナログを合成の標的とした。本研究では熱化学分析等を計画しており、還元末端の水酸基のアノメリ化は、それら議論を困難にすると考えメチルグリコシドとして固定した。また、基質サイズが大きくなるに従い反応速度が増大することが判っており、より大きな基質アナログの有利性が期待されたが、それらは同時に酵素反応部位で基質のスライドも可能とすることから、均一な複合体作成が困難になり、熱化学的議論が複雑になると当初予想した。まず、基質構造の変化を最小にした硫黄置換セロトリオース誘導体 **1** を合成したが、**endoglucanase V** は **1** を全く認識しなかった。**1** は基質の安定配座をミミックするものであり、酵素とのアフィニティーを実現するには、反応遷移状態を安定化したアナログとする必要があると考え、推定する反応遷移状態構造を安定化すると期待してシクロヘキセン構造を導入した **2** を合成した。合成した **2** は予想通り **endoglucanase V** と複合体形成した。共同研究者 城所（長岡技術科学大学）にカロリメトリー実験を依頼し、結合定数 $50 \text{ mol}^{-1}\text{L}^{-1}$ と決定した。これらの結果はシクロヘキセン構造の導入の効果を明らかにしたとも言える。しかし **2** と **endoglucanase V** とのアフィニティーは今後の研究を行うに十分とは言えない。基質サイズと酵素反応速度における正の相関から、反応部位からさらに離れたサブサイトも複合体形成に重要であると考えられ、現在+2サブサイトの効果を探るべく、還元末端に糖鎖を追加した **3** の合成を行っている。

一方、先に合成した硫黄置換トリガラクトツロン酸誘導体 **4** と、リング銀葉病菌由来の **endoPGI** との表面プラズモン実験では、天然型トリガラクトツロン酸のものと比較してその複合体の寿命が 1000 倍長いことを明らかにし、報告している。¹⁾ 前項の実験結果からも伺えるように、**4** の中央部に推定反応遷移状態構造をミミックするシクロヘキセン構造を導入した **5** は、さらに強い相互作用をもたらすと期待し、その合成研究を行った。現在 **6** の合成に成功しており **5** への変換を行っている。



1) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15, 22, 4932-4935 (2005).