

# $\alpha$ -グルコシダーゼとセロビオースホスホリラーゼの

## 機能性糖質合成への応用研究

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座 機能性食品変換学 加藤雅幸

### 1. 緒言

オリゴ糖や配糖体の合成に加水分解酵素の糖転移反応や加リン酸分解酵素の逆反応は有用である。*Halomonas* sp. H11 株由来  $\alpha$ -グルコシダーゼ (HaG) は、二糖特異的酵素であり、グルコシル転移による配糖体合成に有用である。本研究では、様々な低分子化合物を用い、受容体特異性を評価した。実際に、難水溶性の (*R*)-エクオール配糖化の高収率化を行った。また、加リン酸分解酵素を用いた糖質合成として、プレバイオティクス効果を有するラクト-*N*-ビオース I (Gal  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)GlcNAc : LNB I) の合成をセロビオースを出発物質として行った。

### 2. 結果と考察

1) HaG の糖受容体への親和性の評価 : 2 mM *p*-ニトロフェニル  $\alpha$ -D-グルコピラノシドを糖供与体として 13 種の化合物への糖転移活性を測定した。糖転移率 50% を与える糖受容体濃度  $K_m$  を求め、これに基づき受容体特異性を評価した。このうち、エタノール, 1-プロパノール, 1-ブタノールの  $K_m$  はそれぞれ 1570 mM, 56.8 mM, 32.6 mM であった。HaG のサブサイト+1 は疎水性の程度が高いことから、アルキル基の伸長に伴い疎水性相互作用が強まり親和性が増加したと考えられた。

2) HaG による (*R*)-エクオール配糖体の合成 : 糖供与体としてマルトース, 糖受容体として (*R*)-エクオールを用い, HaG による配糖化反応を行った。難水溶性の (*R*)-エクオールの溶解には  $\beta$ -シクロデキストリンを用いた。両基質の濃度条件を検討すると, 600 mM マルトース, 6 mM (*R*)-エクオールの条件において (*R*)-エクオール配糖体の合成量が最大値 2.72 mM に達した。収率は (*R*)-エクオール換算で 45% であった。

3) LNB I の合成 : 図に示す反応系により, セロビオースと GlcNAc を出発材料として LNB I 合成を行った, 本反応系は 4 酵素反応からなる。まず, セロビオースの加リン酸分解により Glc1P を生成し, 続いてルロワール経路により Gal1P に変換し, 加リン酸分解の逆反応により LNB I を生成するものである。両出発材料を 100 mM とし, 一定条件下の反応により, 10 mM の LNB I が得られた。同反応条件に酵母を添加したところ, グルコース濃度の低下に伴い, LNB I が 30 mM に増加した。酵素濃度を上げ, 十分に反応することにより 65 mM の LNB I が得られた。LNB I の収率は 65% であった。

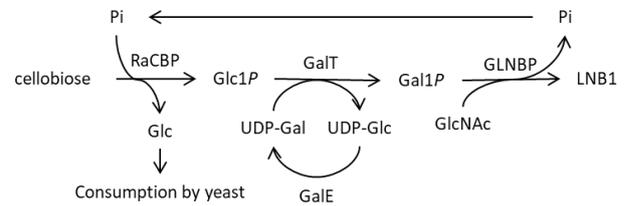


Fig. Reaction scheme for LNB Production from cellobiose