

バクテロイデス属由来 GH84 O-GlcNAcase による酵素触媒グリコシル化反応

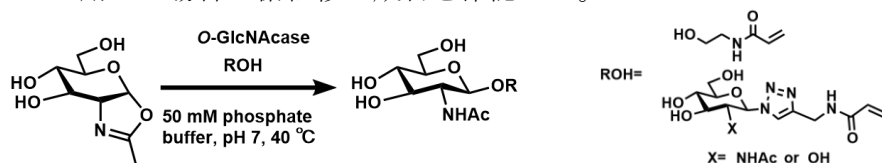
(京工繊大院工芸¹・近大院農²・近大アグリ技研³) ○奥野 梨花¹・大沼 貴之^{2,3}・田中 知成¹

Enzymatic glycosylation catalyzed by GH84 bacterial O-GlcNAcase (¹Graduate School of Science and Technology, Kyoto Institute of Technology, ²Graduate School of Agriculture, Kindai University, ³Agricultural Technology and Innovation Research Institute, Kindai University) ○Rika Okuno,¹ Takayuki Ohnuma,^{2,3} Tomonari Tanaka¹

O-glycosylated N-acetyl-β-D-glucosamine (GlcNAc)-selective-N-acetyl-β-D-glucosaminidase (O-GlcNAcase), which is classified in glycoside hydrolase family 84 (GH84), is a retaining glycosidase found in human pathogens and symbionts. Although it is generally known that retaining glycosidases can catalyze transglycosylation, no transglycosylation catalyzed by GH84 O-GlcNAcase has not been reported. In this study, we succeeded in transglycosylation catalyzed by GH84 O-GlcNAcase from *Bacteroides thetaiotaomicron* (BtGH84 O-GlcNAcase). Transglycosylations catalyzed by BtGH84 O-GlcNAcase were performed in phosphate buffer (pH 7.0) at 40 °C using GlcNAc oxazoline derivative, which was an intermediate analog of enzymatic hydrolysis, and various molecules with hydroxy groups as a glycosyl donor and acceptor substrates, respectively (Scheme 1). Transglycosylation products were observed by HPLC analysis of the reaction mixtures when excess of N-(2-hydroxyethylacrylamide) and GlcNAc and glucose derivatives with a triazole-linked acrylamide at anomeric position were used as acceptor substrates.

Keywords : Glycosidase; Transglycosylation; N-Acetylglucosamine

糖加水分解酵素ファミリー84(GH84)に分類される O-グリコシル化された N-acetyl-β-D-glucosamine (GlcNAc)選択的な N-acetyl-β-D-glucosaminidase (O-GlcNAcase)は、ヒトの病原体や共生生物にも見出されている立体保持型の糖加水分解酵素である。立体保持型の糖加水分解酵素は一般的に、加水分解反応の逆反応である糖転移反応を触媒可能であることが知られているが、GH84 O-GlcNAcase による糖転移反応はこれまで報告されていなかった。本研究では *Bacteroides thetaiotaomicron* 由来 GH84 O-GlcNAcase (BtGH84 O-GlcNAcase)による糖転移に成功した。酵素的加水分解反応における中間体類似物質である GlcNAc オキサゾリン誘導体を糖供与体、ヒドロキシ基を有するさまざまな分子を受容体として、リン酸緩衝液(pH 7.0)中、40°Cで O-GlcNAcase による糖転移反応を行い、反応溶液の HPLC 分析によって反応性を確認した(Scheme 1)。反応溶液の HPLC 分析の結果、過剰量の N-(2-hydroxyethylacrylamide)、1 位にトリアゾール環を介したアクリルアミド構造を持つ GlcNAc 誘導体およびグルコース誘導体を糖受容体として用いた場合に糖転移生成物を確認した。



Scheme 1. Enzymatic glycosylation catalyzed by BtGH84 O-GlcNAcase.