

研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2007～2010  
課題番号：19790018  
研究課題名(和文)植物グリコシルトランスフェラーゼによる新規光学分割法の開発と創薬への応用  
研究課題名(英文)Development on new methodology for optical resolution using plant glycosyltransferases and its pharmacological exploitation  
研究代表者  
下田 恵 (SHIMODA KEI)  
大分大学・医学部・准教授  
研究者番号：40284153

研究代表者の専門分野：生物化学  
科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学  
キーワード：有機合成化学

#### 1. 研究計画の概要

(1) 医薬品の化学合成へ生体触媒を有効利用するため、植物培養細胞および植物グリコシルトランスフェラーゼに潜在する光学分割能力の解明と、その能力を医薬品開発へ応用して医薬品の品質の向上を図ることを目的とする。  
(2) 植物培養細胞に潜在する、医薬品などの外来基質に対する光学分割機能、および立体選択性を明らかにする。  
(3) 反応に関与するグリコシルトランスフェラーゼを精製し、それらの酵素特性を明らかにする。  
(4) 精製した酵素系を用いて、生理活性を持つ医薬用基質、カテキン類、テルペノイド、フェニルアルキルアルコール類の光学分割機能を調べる。

#### 2. 研究の進捗状況

(1) タバコ培養細胞、およびニチニチソウ培養細胞などの植物培養細胞を生体触媒として使用し、外来基質として、医薬用基質である、カテキン、エピカテキン、dl-シトロネロール、dl-フェニルアルキルアルコールに対する立体選択的触媒反応を作用させ、得られる生成物の核磁気共鳴スペクトルを利用した解析により、グルコシドアグリコン部位の選択性を調べ、植物培養細胞の光学分割作用の解明を行ったところ、立体選択性が見られることが明らかとなった。  
(2) 植物培養細胞から、反応に関与する植物グリコシルトランスフェラーゼを抽出し、イオン交換カラム、吸着カラム、アフィニティークラムを使用した各種のクロマトグラフィーにより、植物グリコシルトランスフェラ

ーゼを精製した。精製した植物グリコシルトランスフェラーゼの SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動による解析により、植物グリコシルトランスフェラーゼが単離されていることを確認した。単離した植物グリコシルトランスフェラーゼの触媒作用における至適 pH、至適温度などの酵素特性を明らかにした。  
(3) 精製した植物グリコシルトランスフェラーゼを使用して、dl-フェニルアルキルアルコールに対する立体選択的触媒反応を作用させ、生成物の核磁気共鳴スペクトルを利用した解析により、グルコシドアグリコン部位の選択性を調べたところ、植物グリコシルトランスフェラーゼが触媒する酵素反応に立体選択性が見られることを明らかにした

#### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。  
(理由) 植物培養細胞を生体触媒として使用し、医薬用基質に対する光学分割機能を既に明らかにしている。また植物グリコシルトランスフェラーゼを使用して、医薬用基質に対する光学分割機能も明らかにしており、当初の計画通りに研究が進展している。

#### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 植物グリコシルトランスフェラーゼを使用して、カテキン、エピカテキン、dl-シトロネロールに対する光学分割機能を調べる。  
(2) 他の植物培養細胞としてユーカリ培養細胞、ヨウシュヤマゴボウ培養細胞および、それらの植物グリコシルトランスフェラーゼを使用して、光学分割機能についてスクリ

ーニングを行う。

## 5. 代表的な研究成果

### 〔雑誌論文〕(計3件)

下田恵、久保田直治、近藤陽子、佐藤大介、浜田博喜、Glycosylation of Fluorophenols by Plant Cell Cultures, Int. J. Mol. Sci., 10巻、1942-1949ページ、2009年、査読有

下田恵、坂本創、中島伸佳、浜田初幸、浜田博喜、Synthesis of Unnatural Mono- and Oligosaccharides of Farnesol, Geraniol, and (*S*)-Perillyl Alcohol by Biocatalytic Glycosylations, Chemistry Letters, 37巻、556-557ページ、2008年、査読有

下田恵、原隆文、浜田初幸、浜田博喜、Synthesis of curcumin  $\alpha$ -maltooligosaccharides through biocatalytic glycosylation with *Strophanthus gratus* cell culture and cyclodextrin glucanotransferase, Tetrahedron Letters, 48巻、4029-4032ページ、2007年、査読有

### 〔学会発表〕(計2件)

浜田博喜、大広あずさ、木村江利子、近藤舞、佐藤大介、下田恵、植物酵素触媒によるワンステップグリコシル化反応、第95回有機合成シンポジウム、2009年6月10日、慶応義塾大学

浜田博喜、大広あずさ、木村江利子、近藤舞、佐藤大介、中島伸佳、下田恵、Glycosylation of biological active compound using plant cultured suspension cells, Plant Biology 2009、2009年7月18日、ハワイ