

## 真菌直线型四环混源萜生物合成机制研究获进展

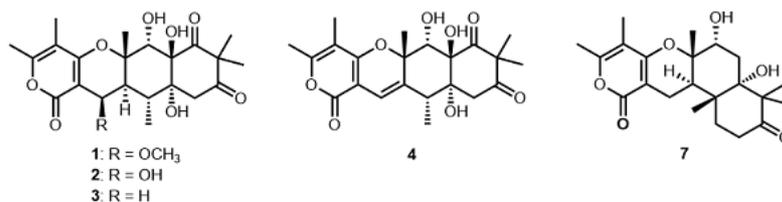
发布时间：2024-03-12



近日，中国科学院南海海洋研究所热带海洋生物资源与生态重点实验室（LMB）闫岩研究员团队在真菌直线型四环混源萜ochraceopones的生物合成与酶反应机制研究方面取得新进展，相关成果“An Enzymatic Carbon-Carbon Bond Cleavage and Aldol Reaction Cascade Converts an Angular Scaffold into the Linear Tetracyclic Core of Ochraceopones”在线发表于Angewandte Chemie International Edition（《德国应用化学》）。助理研究员李艳芹、硕士丛梦静为共同第一作者，研究员闫岩、王俊锋与张长生为共同通讯作者。

混源萜（meroterpenoids）是一类部分分子骨架来源于萜烯的天然产物，它们具有复杂多样的化学结构及广泛的生物学活性。这些丰富的骨架结构既可能来源于萜烯部分多样化的重排与环化，也可能来源于其非萜烯部分如聚酮、吲哚、莽草酸等丰富的后修饰。因此其生物合成途径中可能蕴含了大量新颖的酶促化学反应机制，深入研究这些酶学机制将为我们创建具有新型骨架结构和生物学活性的药物先导提供基础。真菌直线型四环混源萜ochraceopones具有优异的抗病毒和抗炎活性，然而其由常见的四元折线型结构转化为独特的直线型结构所涉及的化学合成和酶学反应机制却极具挑战性。

研究团队早期从一株南极土壤来源真菌*Aspergillus ochraceopetaliformis* SCSIO 05702中分离得到了一类四环混源萜类化合物ochraceopones（化合物1-4, 7）（*J Nat Prod*, 2016,79:59-65）。基于基因组学及生物信息学分析定位了负责该类化合物生物合成的基因簇（图1），通过构建巢曲霉异源表达体系，联合体外微粒体实验及蛋白表达，成功鉴定和表征了负责化合物ochraceopones形成的所有生物合成酶，并阐明了完整的生物合成途径（图2）。



*Aspergillus ochraceopetaliformis* SCSIO 05702

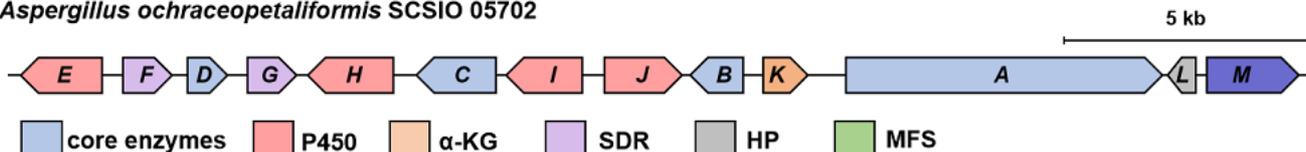


图1. 直线型四环混源萜ochraceopones的生物合成基因簇

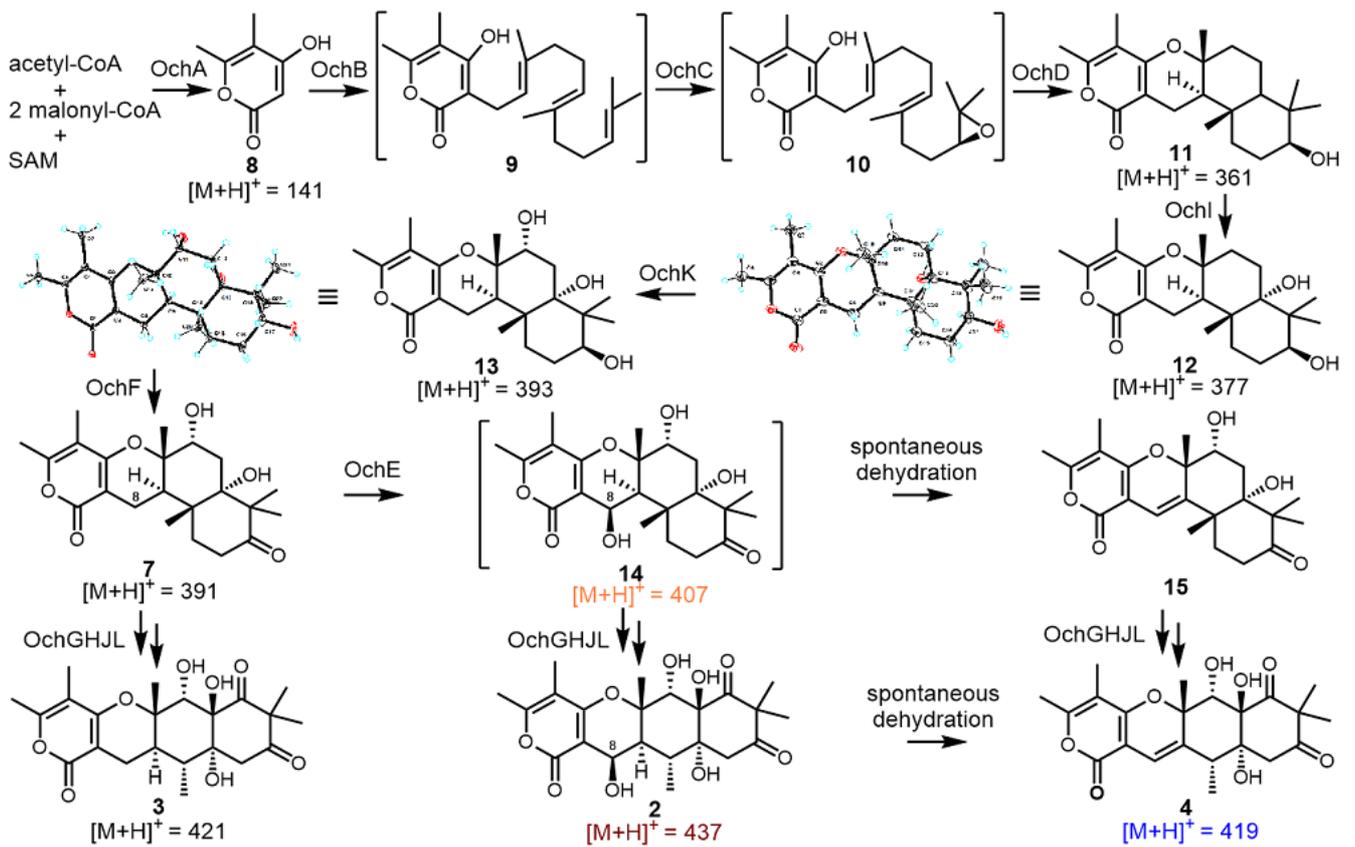


图2. 直线型四环混源萜ochraceopones的生物合成途径推测

在这项研究中，研究团队证明了ochraceopones的线性四环骨架是由同一个折线型前体即ochraceopone E (7) 衍生而来。通过体外氘水标记的微粒体实验，证实了化合物7生成16涉及的碳-碳键断裂反应不是自发进行的，而是由多功能细胞色素P450-OchsH催化完成。其通过将C13位羟基形成氧自由基后促发C13-C14键断裂，而后通过羟基化形成十元环的中间体18，之后自发形成化合物16 (图3)。

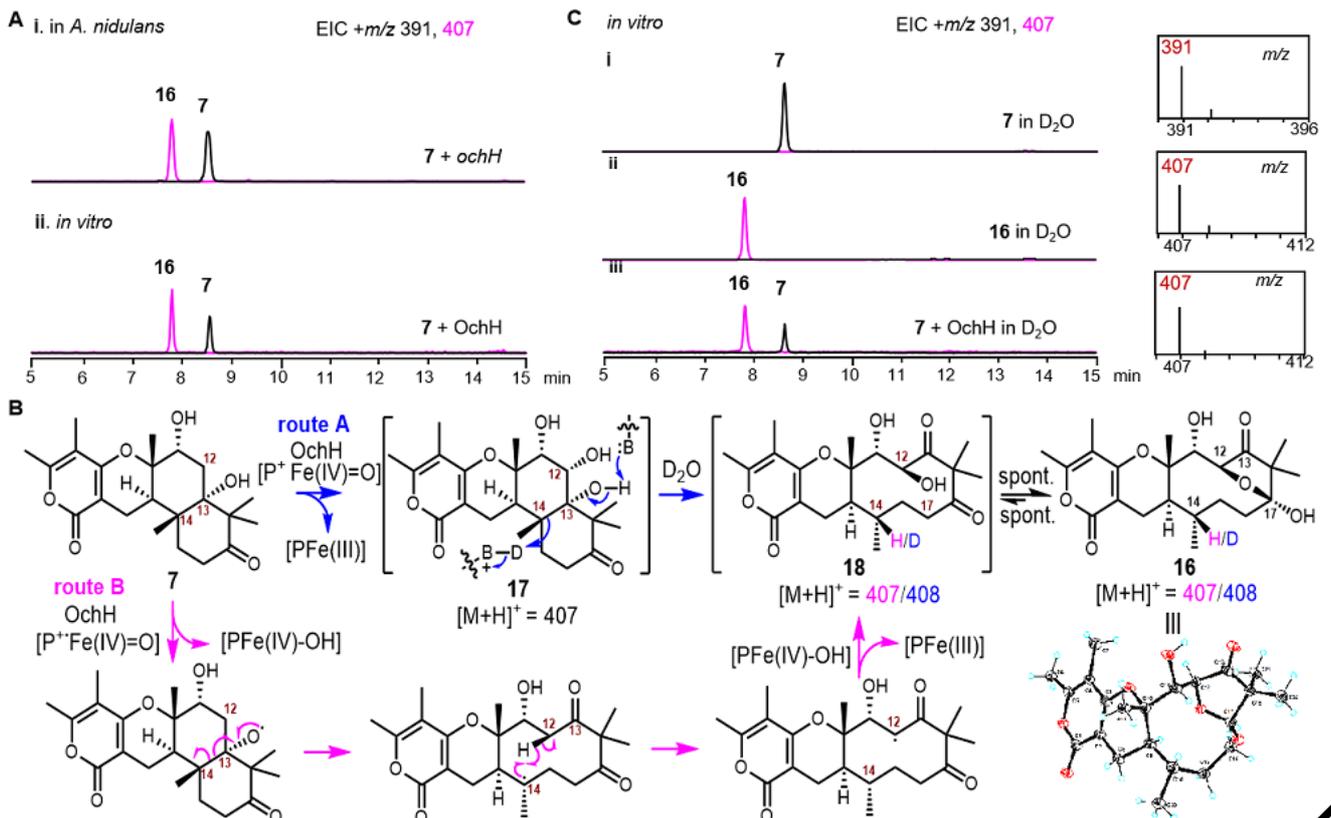


图3. OchH的功能表征

为了验证16作为真实底物的正确性，研究团队将16与基因簇内其余后修饰基因在构巢曲霉中进行了生物转化，并通过体外微粒体与蛋白的联合反应证实了该反应过程。结果显示，异构酶OchL通过催化分子内的羟醛反应将经过多步修饰的碳-碳键断裂形成的十元环重新连接，形成了一个新的碳-碳键而呈现出最终的线性四环化合物3（图4）。

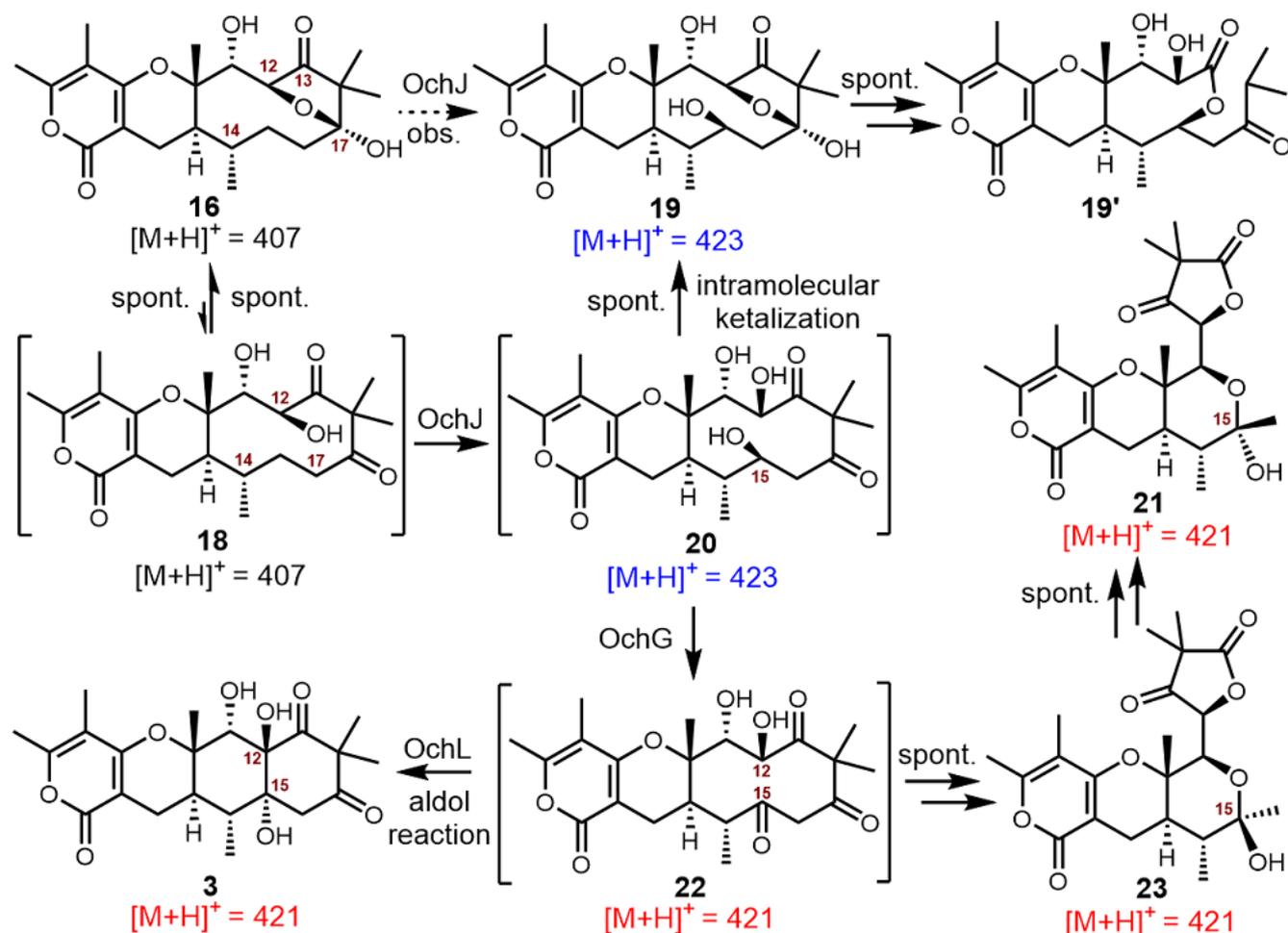


图4. 三环到线性四环骨架ochraceopones的生物转化表征

然而，在异源表达及体外反应过程中，除了获得一系列不能被继续转化的途径副产物如化合物19、19'、21和23之外，均没有检测到反应的真正中间体（图4）。但是就观察到的实验结果表明在目前的生物反应体系中，随着氧化后修饰的多步积累，反应的真实底物在缺乏其后续生物转化酶的条件下无法稳定存在。肯定的是，根据分离到的一系列副产物及其形成机制的推测，可以确定整个反应中间过程存在的真实性。

总之，本研究鉴定并表征了合成ochraceopones的所有生物合成酶，并证明了完整的生物合成途径。证实了ochraceopones类化合物是由OchHJGL催化的酶级联反应将常见的折线型四环前体合成独特线性四环骨架结构。其中，多功能细胞色素P450-OchH负责催化自由基形成并引发C-C键断裂和随后的C12的羟基化，然后OchJ催化C15羟基化和OchG催化C15-OH脱氢。最后，醛缩酶OchL通过催化分子内羟醛反应导致新的C-C键形成而构建最终的线性四环骨架。OchH和OchL的发现及其功能阐明将为寻找更多新的P450酶和醛缩酶提供途径。然而，由于OchL底物的不稳定性，可能需要通过合成更稳定的底物衍生物来进一步研究其催化机理。

上述研究工作得到了国家重点研发计划、海南省科技计划三亚崖州湾科技城科技创新联合项目、国家自然科学基金、中国科学院王宽诚率先人才计划“卢嘉锡国际团队项目”和海南省自然科学基金等的资助。

相关论文信息：Yanqin Li, Mengjing Cong, Wengui Wang, Xiufeng Zhang, Yiguang Zhu, Yongxiang Song, Wenjun Zhang, Hua Xiao, Yonghong Liu, Changsheng Zhang, Junfeng Wang, and Yan Yan. An Enzymatic Carbon-Carbon Bond Cleavage and Aldol Reaction Cascade Converts an Angular Scaffold into the Linear Tetracyclic Core of Ochraceopones. *Angew Chem Int Edit*, 2024. doi.org/10.1002/anie.202403365

文章链接：<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.202403365>



中国科学院  
CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

版权所有 © 中国科学院南海海洋研究所 备案序号：粤ICP备05007992号



地址：广州市海珠区新港西路164号 邮编：510301

Email: [webmaster@scsio.ac.cn](mailto:webmaster@scsio.ac.cn) 电话：020-84452227 (综合办) 传真：020-84451672



官方微信



官方网站

本网站及其文字内容归中国科学院南海海洋研究所所有，任何单位及个人未经许可，不得擅自转载或他用。

