



- 要闻 >
- 科研进展 >
- 通知公告 >
- 工作动态 >
- 媒体聚焦 >
- 科技动态 >
- 专家视野 >
- 区域新政 >

首页 > 科研进展

上海有机所在抗肿瘤天然产物丝裂霉素的生物合成研究方面取得进展

文章来源：上海有机化学研究所 | 发布时间：2022-08-12 | 【打印】 【关闭】

丝裂霉素是上世纪60年代于土壤链霉菌中分离得到的活性天然产物家族，拥有吲哚酮并吡咯并氮丙啶骨架所组成的特征6/5/5/3稠环。丝裂霉素在生物体内还原后被赋予了高亲电性即DNA烷基化能力，因此具有良好的抗肿瘤活性，其代表性成员丝裂霉素C半个世纪以来在临床上应用于多种癌症的化疗。丝裂霉素的工业生产主要依赖链霉菌的发酵，然而人们关于其生物合成机制知之甚少。早期的同位素标记实验阐明了丝裂霉素的主要前体：3-氨基-5-羟基苯甲酸（AHBA）、D-氨基葡萄糖（GlcN）和S-腺苷-L-甲硫氨酸（SAM）。自生物合成基因簇被报道以来，SAM参与丝裂霉素的甲基化后修饰以及AHBA和GlcN的辅酶形式在酰基载体蛋白（ACP）上的偶联被先后证明。然而，偶联产物AHBA-GlcNAc进一步构建稠环的酶学机制仍然未知，载体蛋白水平代谢产物的检测与表征的困难使得人们对丝裂霉素主体骨架的生物合成缺乏认知。深入研究丝裂霉素的生物合成机制，对丝裂霉素的工业生产、发酵菌种改造以及具有生理活性的类似天然产物的发现具有重要意义。

中国科学院上海有机化学研究所刘文课题组对丝裂霉素的生物合成机制展开了研究，并发展了一种基于基因工程的内源表达体系，用于追踪挂载在ACP上的丝裂霉素中间体。课题组通过生物信息学、基因敲除和代谢分析等手段，锁定了mit操纵子，其中mitB和mitE先前已被证明与AHBA-GlcNAc的形成相关，而mitC、mitD、mitF分别编码脱乙酰酶、自由基SAM酶和NADPH依赖的还原酶。课题组推测mitC负责脱乙酰化以形成AHBA-GlcN单元；而进一步对内源表达体系的代谢分析中：AHBA-GlcN中间体在mitD或mitF的缺失株中被发现，而新的AHBA-N-糖苷中间体在野生型中被发现。由此，mitCDF可能参与AHBA-GlcN的形成与进一步修饰。

课题组使用酶学方式体外重构了载体蛋白水平的AHBA-GlcN，并验证了脱乙酰酶MitC的功能。他们使用大肠杆菌共表达体系，重构了先前内源表达体系中AHBA-GlcN原位生成的AHBA-N-糖苷中间体，实验表明，MitD和MitF共同负责AHBA-GlcN转化新的N-糖苷中间体。然后，通过将共表达体系放大，并对获得的大量载体蛋白进行化学衍生、分离和结构鉴定，确定了N-糖苷中间体的结构为末端环氧乙基取代的线性氨基糖。随后，课题组通过详尽的生化表征和体外实验验证了MitD和MitF的酶学功能，并提出了N-糖苷中间体形成机制：首先，NADPH依赖的还原酶MitF负责载体蛋白底物的AHBA-GlcN单元还原为线性氨基糖，其中涉及半缩醛的互变异构和NADPH参与的亚胺还原，该过程在缺乏下游酶的驱动时并不容易发生；然后自由基SAM酶MitD利用其均裂SAM所产生的5'-dA自由基进一步攫取底物线性氨基糖的的氢原子，启动自由基介导的氧化还原中性脱水过程，最后通过还原淬灭得到末端环氧乙基的线性氨基糖产物。

这一工作为知之甚少的丝裂霉素生物合成机制提供了新的见解，拓展了载体蛋白水平上的生物合成研究，并且有望在合成生物学上促进相关研究，以设计和开发具有临床应用潜力的高度融合的稠环化合物。上述工作已经在J. Am. Chem. Soc.上在线发表（DOI: 10.1021/jacs.2c06969），上海有机所刘文课题组王思礼博士为论文第一作者，该工作得到国家自然科学基金委的资助。

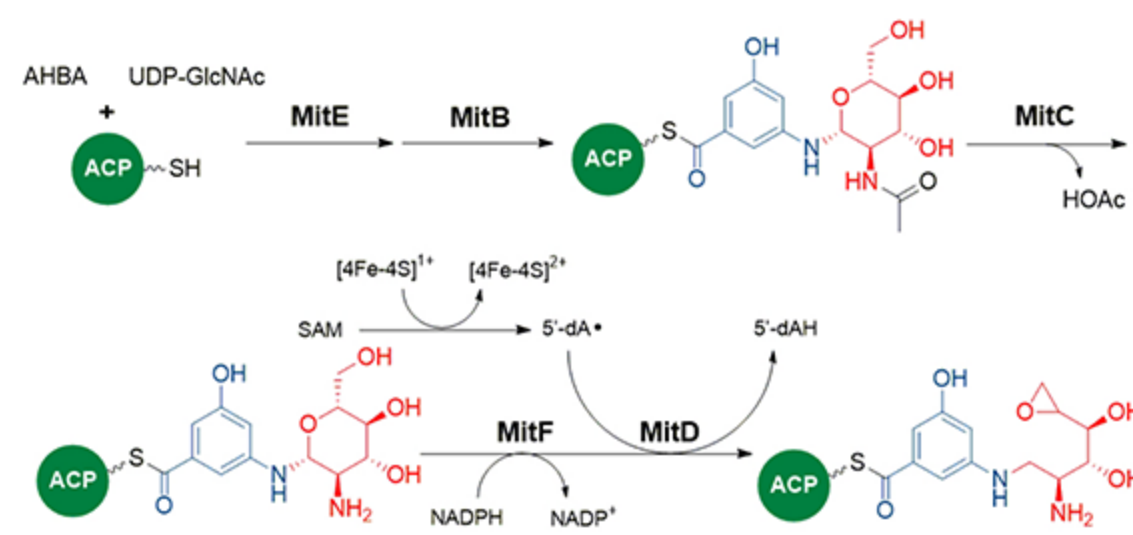


图 丝裂霉素的生物合成机制研究进展

文章链接：<https://pubs.acs.org/articlesonrequest/AOR-MJAM7MPB7BMHWMX7DZYJ>