



探索发现 · 交大智慧

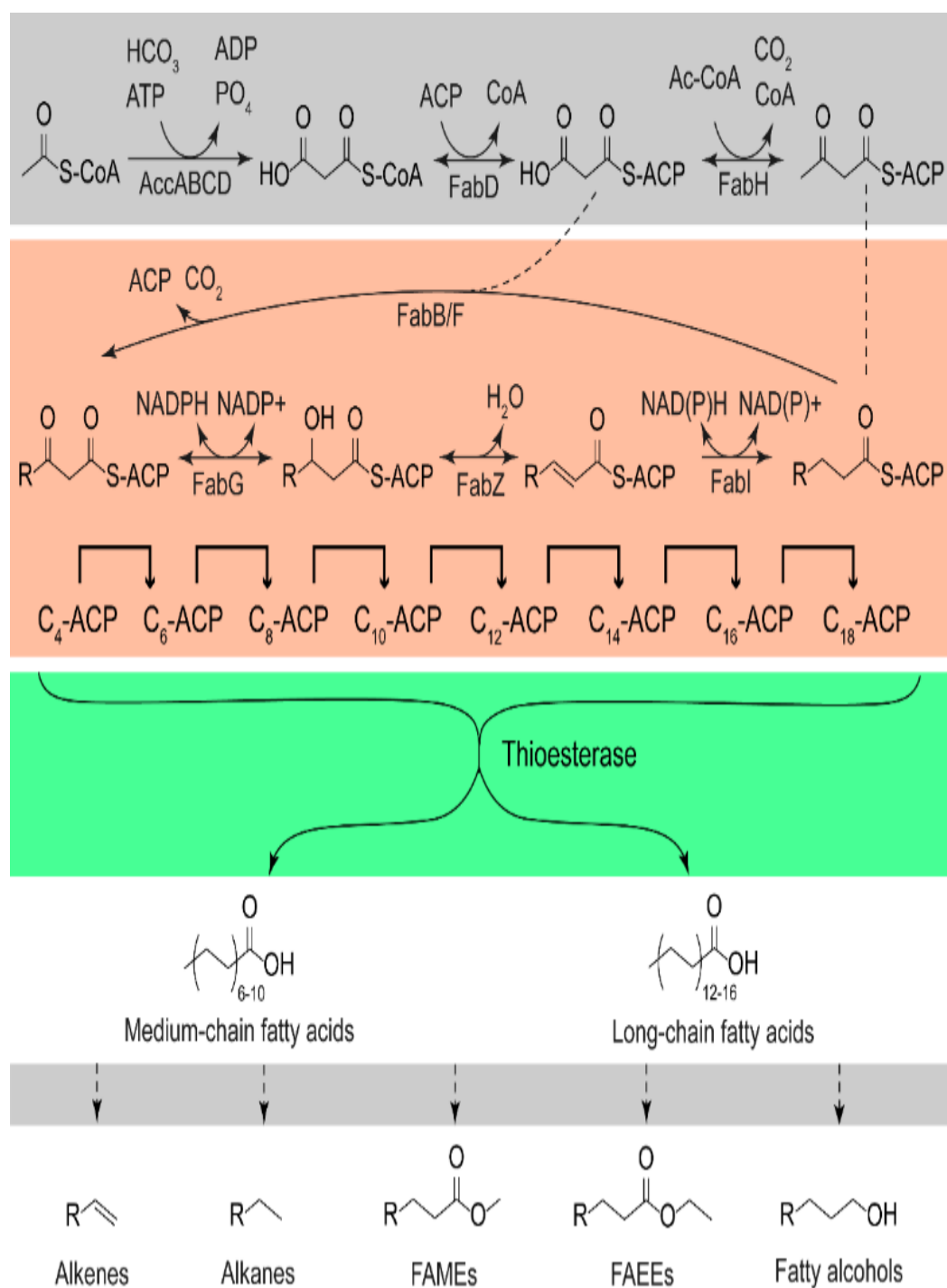
上海交大生命科学技术学院在中链脂肪酸合成硫酯酶的定向设计方面取得新进展

2020年04月30日 责任编辑: 徐菁苒



近日, 国际代谢工程领域重要学术期刊《Metabolic engineering》在线发表上海交大学生命科学技术学院最新研究成果“Structure-guided Reshaping of the Acyl Binding Pocket of ‘TesA Thioesterase Enhances Octanoic Acid Production in *E. coli*’”。上海交通大学博士生邓茜为第一作者, 冯雁教授和杨广宇研究员为共同通讯作者。

酰基链长为六到十个碳原子的中链脂肪酸 (MCFAs, C6–C10) 及衍生物具有独特的应用价值。与长链组分相比, 中链烷烃/烯烃及脂肪酸酯更适合用来替代汽油等现有化石燃料; 中链脂肪酸还具有抗菌、免疫调控等效果, 使相关衍生物广泛应用于食品、药物生产中。近年来脂肪酸的微生物合成取得了许多进展, 但产物中应用价值更高的中链脂肪酸含量仍然较低。硫酯酶是脂肪酸合成过程中链长控制的关键酶, 对硫酯酶进行底物选择性的定向设计是提高中链脂肪酸合成能力的关键。



大肠杆菌硫酯酶 'TesA (去除N端信号肽) 是II型脂肪酸合成途径中应用最广泛的硫酯酶, 但该酶底物选择性宽泛, 合成中链脂肪酸的能力较弱。研究小组聚焦 'TesA酰基结合口袋, 预测与底物结合密切相关的热点残基; 采用半理性设计 (定点饱和突变和活性中心饱和测试) 策略, 利用酯酶底物acyl-pNP进行突变库的高通量筛选、脂肪酸合成途径真实底物acyl-ACP对优异突变体进行底物选择性表征, 获得的最优突变体RD-2 (M141L/E142D/Y145G/L146K) 对中链底物C8-ACP的活性和选择性比野生型分别提高了8倍和133倍。将最优突变体基因引入到脂肪酸合成工程菌中, 所获工程菌的辛酸产量比野生型提高10倍, 在5-L发酵罐中辛酸产量达2.7 g/L, 是目前大肠杆菌II型脂肪酸途径报道的最高辛酸滴度。

研究小组还解析了选择性发生明显转变突变体的晶体结构。通过结构比较及动力学模拟分析, 发现突变体酰基结合口袋底部139-145区域的显著构象变化重塑了口袋形状, 同时口袋中部出现明显的连续疏水界面。底物对接结果表明, 连续疏水界面提高了突变体对中链底物的亲和性, 而重塑的酰基结合口袋使长链底物处于扭曲状态, 不利于酶与底物的结合, 从而降低对长链底物的催化活性。研究首次证实了 'TesA 硫酯酶酰基结合口袋重塑与疏水性提高驱动了突变体底物选择性的重大转变, 将为进一步改造SGNH家族硫酯酶提供有力指导。

该研究建立并成功实施了针对硫酯酶底物选择性的半理性设计策略, 揭示了 'TesA硫酯酶loop运动重塑催化口袋的新机制, 为其他硫酯酶的分子改造提供了重要指导, 有望进一步促进微生物细胞工厂的中链脂肪酸合成能力。

该研究项目获得科技部 (2017YFE0103300) 和国家自然科学基金 (31570788,31670791及21627812) 的资助。

论文链接：<https://doi.org/10.1016/j.ymben.2020.04.010>
(<https://doi.org/10.1016/j.ymben.2020.04.010>)

作者：杨广宇
供稿单位：生命科学技术学院

沪ICP备05052060 (<http://www.beian.miit.gov.cn/>) 沪举报中心 版权所有© 上海交通大学 新

闻网编辑部维护

地址：上海市东川路800号 邮编：200240 查号：86-21-54740000