

天津工业生物所等开发亚细胞区室工程策略进行复杂天然产物人参皂苷的异源生物合成

发布时间: 2021-08-03 供稿部门: 微生物代谢工程研究组

在天然宿主中, 复杂天然产物的生物合成和存储存在跨越多种类型亚细胞区室(如线粒体、内质网、脂滴、液泡等)的特征, 甚至还存在跨越不同组织器官的特征。例如紫杉醇、阿托品生物碱、人参皂苷、大麻素和甾体激素等天然产物的生物合成过程中, 其酶、辅因子和中间体等常常具有区室分布的特征。这些特征虽然是宿主长期适应性进化的最佳结果, 但也成为了其高效异源生物合成体系创建和应用过程中的关键限制因素。真核生物酿酒酵母包含各种亚细胞区室, 每个亚细胞区室都提供了一个独特的生理环境, 被认为是复杂天然产物异源合成的最佳选择之一。对酿酒酵母特定的亚细胞区室进行重塑和利用, 在提高细胞工厂合成效率方面具有广阔的应用前景。

中国科学院天津工业生物技术研究所张学礼研究员带领的微生物代谢工程研究团队与中国中医科学院黄璐琦研究团队在早期合作研究过程中, 发现在酵母人工细胞中三萜化合物的生物合成代谢中间体存在脂溶性及外泌现象(ZB Dai, *Metab. Eng.*, 2013; ZB Dai, *Metab. Eng.*, 2019)。然而在人参皂苷生物途径中的关键P450酶PPDS通常认为定位在内质网中, 与其底物(达玛烯二醇-II, DD)并不在同一个反应区室中, 人参皂苷工程菌中酶(PPDS)及其底物(DD)的区室化分隔可能是影响途径催化效率的重要原因(图1)。为了对这一推论的验证和利用, 合作团队首先通过对酿酒酵母工程细胞的脂滴进行提取分析, 发现人参皂苷生物合成的多个中间代谢物大量存储于酵母脂滴中; 同时, 对途径中各关键酶开展荧光定位研究, 发现途径中的关键P450酶PPDS主要定位在内质网上, 从而在异源工程菌中证实了反应底物与酶存在区室化分隔的推论。在此基础上, 研究进一步利用脂滴膜蛋白Pln1p将定位于内质网的细胞色素P450酶PPDS靶向DD的储存细胞器—脂滴, 为该酶反应重建了新的反应区室, 结果显著提高了PPD的生产效率, 底物转化率达到86%(图1和2)。最终, 在高产PPD的底盘菌株中, 引入从药用植物三七中挖掘的人参皂苷Compound K(CK)的生物合成高效模块Pn3-29(D Wang, *Metab. Eng.*, 2020), 获得的工程菌在5 L的生物反应器中CK最大滴度能达到5 g/L。本研究为开发酿酒酵母合成异源复杂天然产物提供了一种新的策略。

研究工作得到合成生物学国家重点研发计划、国家自然科学基金等项目支持, 相关成果已经发表在领域TOP期刊*Metabolic Engineering*上, 并申请专利两项。天津工业生物所与华南理工大学联合培养硕士研究生石玉松为该论文的第一作者, 天津工业生物所/国家合成生物技术创新中心张学礼研究员和戴住波研究员为论文的共同通讯作者。

文章链接

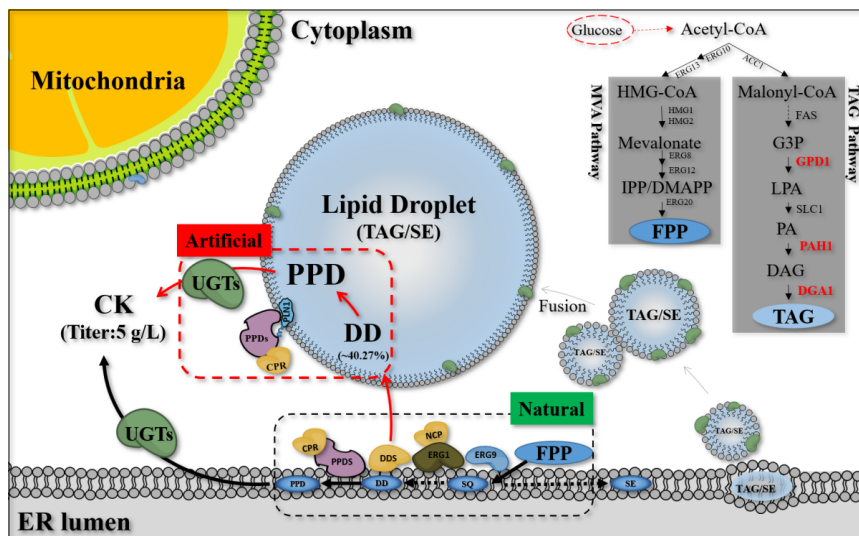


图1: 亚细胞工程与代谢工程相结合高产复杂天然产物人参皂苷CK

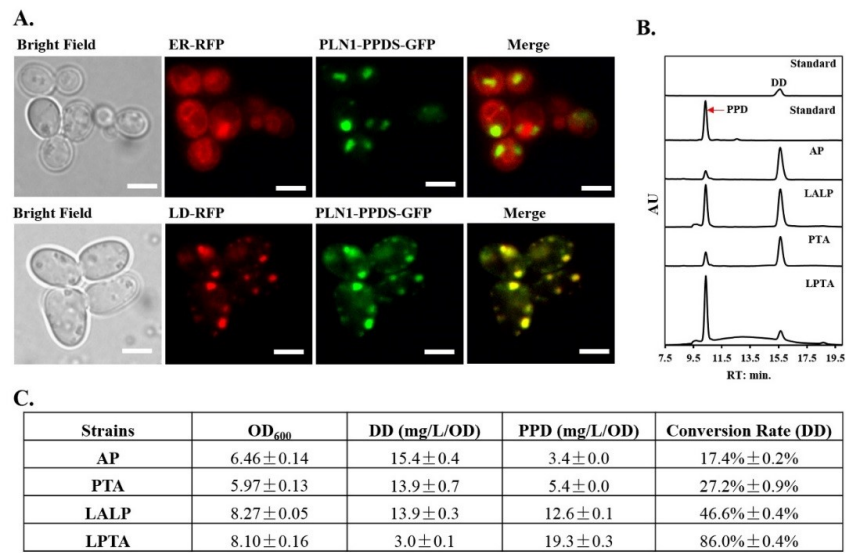


图2: 脂滴定位对人参皂苷生物合成的影响

【打印】 【关闭】 【返回】



Copyright 2012 All Rights Reserved 中国科学院天津工业生物技术研究所 版权所有

通讯地址: 天津空港经济区西七道32号, 邮编: 300308

电话: 022-84861997/84861977, 传真: 022-84861926, 邮箱: tib_zh(AT)tib.cas.cn

京ICP备05002857号