

请输入关键字



当前位置：首页 > 新闻动态 > 科研进展

利用“仿化”生物催化系统实现烷基酚侧链的碳氢键选择性氧化——谷氨酸棒杆菌对甲酚降解途径的解析与应用

供稿部门：酶工程团队

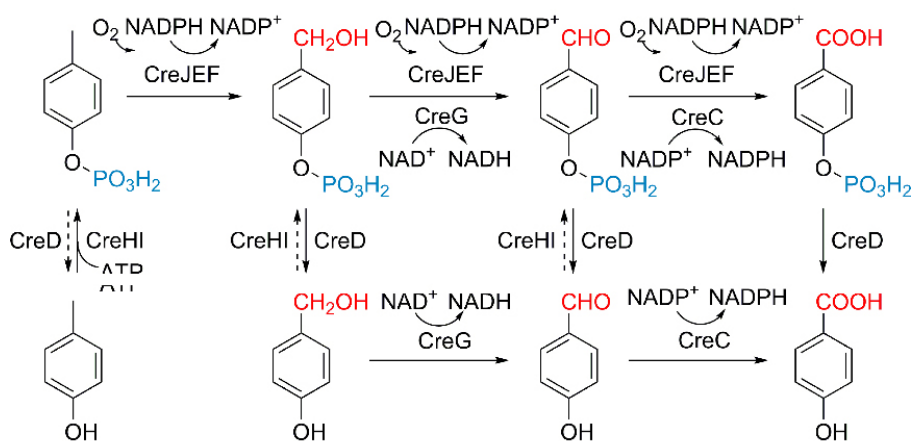
发布时间：2017-06-13

烷基酚是抗氧化剂、洗涤剂、聚合材料、润滑剂、乳化剂、杀虫剂和药物等多种化学品生产中的重要前体。与此同时，烷基酚亦是重点环境污染物，对动物和人类具有显著毒性和致癌性。烷基酚侧链中碳氢键的选择性氧化一方面对这些环境污染物的生物降解具有重要作用，另一方面对其通过结构衍生化生成心血管疾病治疗药物美多心安，植物天然药物天麻素、红景天苷等高值精细化学品也是意义非凡。

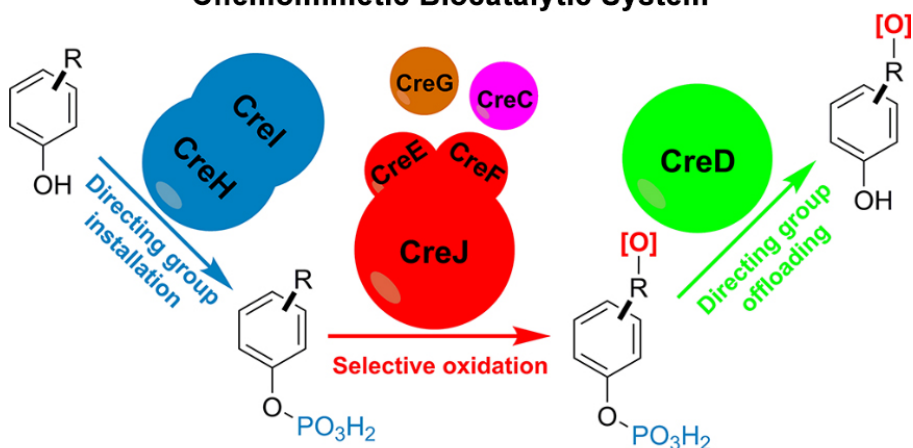
近期，青岛能源所李盛英团队携手中国科学院微生物研究所刘双江课题组，基于前期从谷氨酸棒杆菌 (*Corynebacterium glutamicum*) 中鉴定的对甲酚 (*p*-cresol) 生物降解相关基因簇“*cre*”，通过体外实验对该基因簇编码的CreCDEFGHI七个酶蛋白的催化功能和酶学特性进行了彻底解析，并成功实现了整条降解途径的体外重建。首先，对甲酚被双亚基磷酸化酶CreHI转化为4-甲基基磷酸；然后，4-甲基基磷酸中的甲基被一种多功能细胞色素P450氧化系统CreJEF连续氧化，生成磷酸化的醇、醛、酸中间产物；最终，上述磷酸化中间产物被磷酸水解酶CreD水解，分别生成对羟基苯甲醇、对羟基苯甲醛和对羟基苯甲酸；对羟基苯甲酸可进入微生物中心代谢而被完全降解利用。此外，该降解途径中还含有一个醇脱氢酶CreG和一个醛脱氢酶CreC，这两种酶的存在可进一步加强对甲酚的降解效率。



p-Cresol Biodegradation Pathway in *C. glutamicum*



Chemomimetic Biocatalytic System



在对甲酚降解过程中，Cre生物催化系统所展示的磷酸基团“装载”（CreHI）、磷酸化中间体氧化（CreJEF、CreG和CreC）和磷酸基团“卸载”（CreD）与化学氧化策略中通常采用的基团保护、中间体氧化和基团去保护的整个过程不谋而合。这种“仿化”（chemomimetic）生物催化方式在自然界中极为罕见，如能将这一策略的普适性与生物氧化的高选择性结合起来，将为“碳氢键选择性氧化”这一世界性难题做出重要贡献。

为了拓宽这一生物催化系统的底物选择性，青岛能源所李盛英团队与所内冯银刚团队合作，首先对该系统的核心催化剂—P450单加氧酶CreJ与其底物对甲酚进行了共晶解析。在充分理解CreJ催化机理和底物选择性的基础之上，选取了10种不同类型的烷基酚进行选择性氧化测试，发现该生物催化系统可以成功实现对位和间位取代烷基酚侧链的选择性氧化，催化过程涉及羟化、脱氢和碳—碳键断裂等多种氧化反应类型。其中，CreJ催化对乙酚和间乙酚的苄位羟化实现了完美的立体选择性，这在化学催化上是极难实现的。以对乙酚为例，通过共晶结构解析完美地阐释了CreJ位点和立体选择性的分子基础；通过调控反应条件，成功实现了对乙酚多种氧化产物的选择性合成。

值得一提的是，上述“仿化”生物催化系统不仅能够对烷基酚进行选择性氧化，而且还能实现非芳碳链的选择性氧化，展示出良好的底物宽泛性，具有广阔的实际应用前景。此外，生物信息学分析显示类似的生物催化系统存在于多种微生物中，这将为未来进一步开发具有

所需底物偏好性、氧化选择性和催化效率的生物氧化系统提供更为广泛的来源。

上述工作由中国科学院青岛生物能源与过程研究所“一三五重点培育方向”团队合作完成，主要核心成员均来自山东省合成生物学省级重点实验室（筹），得到了国家自然科学基金优秀青年科学基金（NSFC 31422002）与面上项目（NSFC 31270784）、山东省自然科学基金杰出青年基金（JQ201407）、中科院前沿重点研究计划（QYZDB-SSW-SMC042）及科技部973计划（2012CB7211-04）的支持，相关成果目前已发表于Journal of Biological Chemistry与Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America杂志。（文/图 李盛英 杜磊）

相关论文与专利：

1. Lei Du, Li Ma, Feifei Qi, Xianliang Zheng, Chengying Jiang, Ailei Li, Xiaobo Wan, Shuang-Jiang Liu, and Shengying Li, Characterization of a unique pathway for 4-cresol catabolism initiated by phosphorylation in *Corynebacterium glutamicum*. Journal of Biological Chemistry, 2016. 291(12): 6583-6594. (<http://www.jbc.org/content/291/12/6583.full>)
2. Lei Du, Sheng Dong, Xingwang Zhang, Chengying Jiang, Jingfei Chen, Lishan Yao, Xiao Wang, Xiaobo Wan, Xi Liu, Xinquan Wang, Shaohua Huang, Qiu Cui, Yingang Feng, Shuang-Jiang Liu, and Shengying Li, Selective oxidation of aliphatic C-H bonds in alkylphenols by a chemomimetic biocatalytic system. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2017. Published ahead of print June 12, 2017, doi:10.1073/pnas.1702317114. (<http://www.pnas.org/content/early/2017/06/06/1702317114.full>)
3. 李盛英, 杜磊, & 刘双江 (2016) 一种酚类化合物氧化的生物催化系统及其应用. Chinese patent. 201610015698.3.

