亮点

揭秘环内过氧桥键生物合成新机制

高强*, 赵树欣, 纪增春, 曹鹏, 胡栋

天津科技大学生物工程学院, 工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津 300457

E-mail: gaoqiang@tust.edu.cn

收稿日期: 2016-01-13; 接受日期: 2016-01-20; 网络版发表日期: 2016-01-27

含过氧桥键的化合物包括环内过氧化合物、链过氧化物和过氧氢基化合物, 其中环内过氧化合物具有多种生物活性. 高效抗疟疾的青蒿素是最具有代表性的化合物, 其发现者屠呦呦教授也因此荣获 2015 年诺贝尔生理学或医学奖^[1,2]. 为摆脱青蒿素生产局限于植物提取的困境, 美国加州大学伯克利分校 Jay Keasling 教授联合 Amyris 公司历经 12 年、耗资 1 亿美元, 最终运用合成生物学技术, 在转基因酵母中成功地生产出青蒿素的前体青蒿酸, 这是利用微生物生产青蒿素的里程碑式突破^[3]. 但遗憾的是, 催化青蒿酸形成青蒿素的环内过氧桥键合酶却始终没有被发现, 成为一个亟待解决的国际性关注焦点.

为此, 中国科学院微生物研究所张立新研究员担任首席科学家的国家重点基础研究发展计划(973 计划)团队提出了一个创造性假设: 催化这类反应的环内过氧桥键合酶元件很可能来源于黄花蒿共生的真菌中. 以此假设为基础, 开始从自主构建的海洋微生物天然产物库中寻找含有这类过氧桥键的化合物与相应的催化酶. 在国家杰出青年科学基金与 973 计划的资助下, 通过与 973 海外创新团队成员美国波士顿大学刘平华、以及德克萨斯大学张燕合作, 成功地从保藏的几株霉菌中分离出具有抗感染等多种生物活性的含过氧桥键萜类吡咯生物碱——震颤真菌毒素(verruculogen), 并揭示了该化合物的过氧桥键由一个依赖 α -酮戊二酸的单核非血红素铁酶 FtmOx1 催

化合成^[4].

文章首次报道了 FtmOx1 的晶体结构与活性中心位点(图 1), 以及 FtmOx1 分别与 α -酮戊二酸和底物 fumitremorgen B 的共晶体结构. 阐明了 FtmOx1 独特的催化机理: 当铁中心结合 α -酮戊二酸和两个氧原子后, 酪氨酸残基(Y224)屏蔽了催化中心, 使其不能直接接触底物, 因而推测 Y224 位于其活性中心, 在催化过氧桥键合成过程中发挥了至关重要的作用. 他们通过快速反应动力学和冷冻淬灭电子自旋光谱实验, 证实了 FtmOx1 反应中存在自由基中间体. 当 Y224 点突变为丙氨酸或苯丙氨酸后, FtmOx1 催化主产物不再是过氧桥键化合物, 从而验证了上述假设. 而其他绝大多数同类酶的活性中心却可以直接作用于底物. 因此 FtmOx1 是一类全新的可催化环内过氧桥键合成的 α -酮戊二酸依赖酶.

以上研究成果在国际上首次揭示了这一独特的环内过氧桥键的生物合成新机制, 确认了酪氨酸残基(Y224)为其关键的活性中心. 在此基础上针对其保守活性中心酪氨酸残基开展进一步研究, 将极大地推动催化青蒿酸形成青蒿素的环内过氧桥键合酶的发现, 并为寻找此类新的过氧桥酶、阐明其催化产生的新型过氧桥化合物的新功能开辟了新的研究领域, 也为对其他同类的单核非血红素铁酶的定向分子改造, 以及含过氧桥键的萜类吡咯生物碱等化合物的工业合成指明了研究方向.

引用格式: 高强, 赵树欣, 纪增春, 等. 揭秘环内过氧桥键生物合成新机制. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 339–340
Gao Q, Zhao S X, Ji Z C, et al. Discovery of a novel mechanism for endoperoxide bridge biosynthesis. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 339–340, doi: 10.1360/N052015-00391

图1 FtmOx1 的(A)晶体结构与(B)活性中心位点

参考文献

- 1 Rachel D S, Alexander M J, Gary H P. Antimalarial peroxides: advances in drug discovery and design. *Med Chem Commun*, 2012, 3: 281–297
- 2 Kong L, Tan R. Artemisinin, a miracle of traditional Chinese medicine. *Nat Prod Rep*, 2015, 2: 1617–1621
- 3 Paddon C J, Westfall P J, Pitera D J, et al. High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin. *Nature*, 2013, 496: 528–532
- 4 Yan W, Song H, Song F, et al. Endoperoxide formation by an α -ketoglutarate dependent mononuclear non-haem iron enzyme. *Nature*, 2015, 527: 539–543