上海有机所在丝裂霉素的生物合成研究方面取得进展

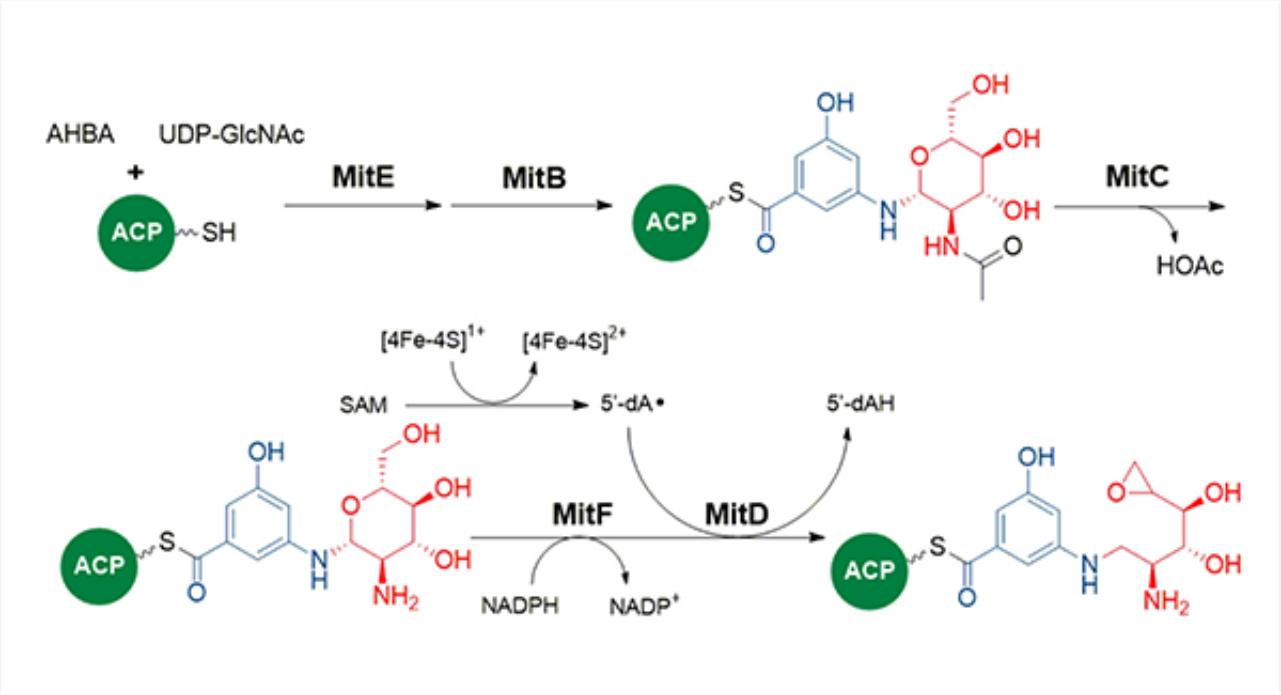
作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/19645.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

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，拥有吲哚醌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研究，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。团队通过生物信息学、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。
研究人员推测*mitC*负责脱乙酰化以形成AHBA-
GlcN单元；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。因此，*mitCDF*可能参与AHBA-GlcN的形成与进一步修饰。 该团队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，Mit
D和MitF共同负责AHBA-GlcN转化新的*N*
-糖苷中间体。通过将共表达体系放大和对获得的大量载体蛋白进行化学衍生、分离和结构鉴定，研究人员确定了*N*
-糖苷中间体的结构为末端环氧乙基取代的线性氨基糖。研究通过生化表征和体外实验验证了MitD和MitF的酶学功能，提出了*N*
-糖苷中间体形成机制：首先，还原酶MitF负责将载体蛋白上的糖苷底物AHBA-GlcN还原为线性的氨基糖，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；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，通过还原淬灭得到末端环氧乙基的线性氨基糖产物。该研究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，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。相关研究成果在线发表在*J. Am. Chem. Soc.*上。相关研究工作得到国家自然科学基金委的资助。 论文链接



丝裂霉素的生物合成机制研究获进展
研究团队单位：上海有机化学研究所

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发