

昆明植物所阐明天然稀有弩箭子糖的生物合成机制

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/9078.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！

天然糖类是活性天然产物的一个重要结构单元，糖苷化修饰有利于提高活性分子的生物相容性及靶点识别的特异性，迄今许多临床一线使用的药物如红霉素、阿霉素及万古霉素等都是糖苷类化合物。弩箭子糖(antiarose)是一类六碳脱氧糖，最初于1896年由水解剧毒木本植物见血封喉树汁液中的天然毒素—— α -弩箭子甙(α -antiarin)得到。据报道，目前大约有50多种强心苷类化合物中含有弩箭子糖结构，这一类强心苷类化合物对 Na^+/K^+

-腺苷三磷酸酶或者是人肿瘤细胞系具有纳摩尔级的抑制活性，它们在心力衰竭、房性心律失常和癌症的治疗方面具有重要的临床应用价值。除上述强心苷外，弩箭子糖这一不常见的天然结构仅存在于少数几个天然产物中，且目前弩箭子糖的生物合成机制尚不清楚。

2016年初，中国科学院昆明植物研究所天然药物化学前沿交叉团队黄胜雄研究组阐明了托酚酮吡啶生物碱类化合物rubrolones生物合成过程涉及二型聚酮合酶和氧化酶介导的复杂氧化重排形成托酚酮环的化学机制(Org. Lett. 2016, 18, 1254)。随后通过该研究组对rubrolones的生物合成途径作了进一步的详细解析，阐明了自然界普遍存在非酶催化的吡啶环生物合成机制(Nat. Commun. 2016, 7, 13083)。

最近，该课题组在前期生物合成解析基础上，对其糖配体的关键基因进行了深入研究。通过系列体外酶学实验证实了rubrolones中糖配体关键基因RubS3-S5的作用逻辑，并运用波谱学方法确定了酶RubS3作用后的产物为TDP-D-antiarose

(4)。分析酶RubS3体外反应的底物TDP-4-keto-6-deoxy-D-glucose (1)和产物TDP-D-antiarose (4)的结构差异，对酶RubS3可能的催化机制提出了三种假设(图1, 机制A、B和C)。随后，通过设计系列氘原子标记的体外酶学实验探索了酶RubS3的作用机理，初步发现它通过推测的机理C产生作用，即NADPH中4S

-H传递到C-4位羰基，完成羰基的还原，溶剂中的质子传递到C-3位，经烯醇中间体完成C-3位的异构，从而形成产物TDP-D-antiarose

(4)。酶RubS3由此被鉴定为一类新型的还原-异构双功能酶，系统发育分析发现rubterolone生物合成基因簇中的酶RbIE与之有较高的相似性。后续的体外酶学实验证实酶RbIE也能将底物TDP-4-keto-6-deoxy-D-glucose转化为产物TDP-D-antiarose，且与酶RubS3具有相似的米氏动力学参数。序列比对发现酶RubS3具有短链脱氢/还原酶中的活性催化三联体Thr111-Tyr135-Lys139。据此，使用点突变的方法构建了酶RubS3的三种突变蛋白(T111V, Y135F和K139A)，体外酶学实验发现上述突变蛋白的催化活性较野生型蛋白显著降低或完全消失，但有关酶RubS3碱性残基的突变的一系列蛋白突变体却没有表现出催化能力的改变，暗示酶RubS3作用时C-3位羟基的异构可能经由一种潜在的新机制完成。

上述研究内容表明，RubS3和RbIE是一类新型的还原-异构双功能酶，它们均通过图2所示的机制催化自然界中稀有弩箭子糖的生物合成。这一类酶的发现解决了百年来悬而未决的有关自然界中弩箭子糖如何形成的科学问题，为后期利用相关组合生物合成和合成生物学手段扩充天然糖苷化合物的结构多样性奠定了基础。

该研究成果以Biosynthetic access to the rare antiarose sugar via an unusual reductase-epimerase 为题在线发表于国际期刊Chemical Science。上述研究工作得到国家自然科学基金-云南省联合基金重点项目(U1702285)、国家合成生物学重点研发计划、中科院青年创新促进会专项、云南省人才专项和应用基础研究计划等资助。

[文章链接](#)

图1. 酶RubS3将底物1转化为产物4的三种可能机制

研究团队单位：昆明植物研究所

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

本文版权归作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发